

Der Einfluss unterschiedlicher Haltungsbedingungen,  
Gruppenkonstellationen und Gruppengrößen auf  
die Fertilitätsparameter männlicher und weiblicher  
Javaneraffen (*Macaca fascicularis*)

MARC NIEHOFF



**INAUGURAL-DISSERTATION** zur Erlangung des Grades eines **Dr. biol. anim.**  
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**



**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2010

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1<sup>st</sup> Edition 2010

© 2010 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

**[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)**

Aus dem Institut für Veterinär -Anatomie, -Histologie und -Embryologie der  
Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. M. Bergmann

und

Covance Laboratories GmbH Münster

Betreuer: Prof. Dr. G.F. Weinbauer

**Der Einfluss unterschiedlicher Haltungsbedingungen,  
Gruppenkonstellationen und Gruppengrößen auf die  
Fertilitätsparameter männlicher und weiblicher  
Javaneraffen (*Macaca fascicularis*)**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Grades eines

Dr. biol. anim.

beim Fachbereich Veterinärmedizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

**Marc Niehoff**

aus Münster in Westfalen

Gießen 2010

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. habil. G. Baljer

Gutachter: Prof. Dr. M. Bergmann

Prof. Dr. G.F. Weinbauer

Tag der Disputation: 05. März 2010

Meiner Familie, allen voran meiner Frau Elin und unserem Sohn Lars-Ole, die mich über die Jahre stets in meinen Vorhaben gefördert und unterstützt haben und dabei sehr oft Verständnis und Geduld für mich aufbringen mussten



## INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG .....	5
2	LITERATURÜBERSICHT .....	7
2.1	Primaten in der biomedizinischen Forschung.....	7
2.2	Tierhaltung in toxikologischen Prüfungen.....	8
2.2.1	Käfigtypen.....	8
2.2.2	Einzelhaltung versus Gruppenhaltung .....	9
2.3	Haltungsbedingungen und Stress .....	10
2.4	Hormonelle Funktionskreise .....	11
2.4.1	Die Steroidhormonbiosynthese .....	12
2.4.2	Wirkungsmechanismus .....	13
2.4.3	Der Ovulationszyklus.....	15
2.4.4	Die Steuerung der Spermatogenese .....	16
2.5	Haltungsbedingungen, Stress und Reproduktion.....	17
2.6	Reproduktionsstrategien von Primaten .....	18
2.7	Biologie der Javaneraffen .....	21
3	METHODEN .....	22
3.1	Weibliche Tiere.....	22
3.1.1	Gruppenhaltung [Gruppe 1].....	22
3.1.2	Langzeitpaarhaltung [Gruppe 2 ] .....	23
3.1.3	Paarhaltung [Gruppe 3].....	24
3.2	Männliche Tiere .....	24
3.2.1	Gruppenhaltung [Gruppe 1].....	25
3.2.2	Dreiergruppen [Untergruppen 1a und 1b].....	26
3.2.3	Gruppenhaltung [Gruppen 2, 3 und 4].....	26
3.2.4	Dreiergruppen [Untergruppen 2a, 2b und 2c].....	26
3.3	Food Challenge Test .....	28
3.4	Vaginal Abstriche .....	28
3.5	Hodenmessung .....	28
3.6	Elektroejakulation/Ejakulatgewinnung.....	29
3.7	Hormonbestimmungen.....	29
3.7.1	Testosteron .....	30
3.7.2	Follikel-stimulierendes Hormon (FSH) .....	30
3.7.3	Östradiol (17 $\beta$ -Estradiol) .....	31
3.7.4	Inhibin-B .....	31
3.7.5	Progesteron .....	32
3.8	Klinische Chemie .....	32
3.9	Statistische Datenanalyse .....	34
4	ERGEBNISSE .....	35
4.1	Allgemeine Befunde (Rangordnung/Gruppenhierarchie).....	35
4.2	Korrelation (Rangordnung - Individualwerte) .....	36
4.3	Klinische Chemie .....	37
4.4	Referenzdaten zum Körpergewicht.....	42
4.5	Referenzdaten zum Hodenvolumen .....	43
4.6	Männliche Tiere der Gruppe 1 .....	44
4.6.1	Körpergewicht.....	44
4.6.2	Hodenvolumen .....	47
4.6.3	Spermienzahl.....	50



4.6.4	Spermienmotilität.....	51
4.6.5	Follikel-Stimulierendes-Hormon (FSH) .....	52
4.6.6	Inhibin-B .....	54
4.6.7	Testosteron .....	55
4.7	Männliche Tiere der Gruppe 1a und 1b .....	56
4.7.1	Körpergewicht.....	56
4.7.2	Hodenvolumen .....	61
4.7.3	FSH .....	64
4.7.4	Inhibin-B .....	66
4.7.5	Testosteron .....	68
4.8	Männliche Tiere der Gruppe 2, 3 und 4 .....	69
4.8.1	Körpergewicht.....	69
4.8.2	Hodenvolumen .....	72
4.8.3	Testosteron .....	77
4.9	Männliche Tiere der Untergruppen 2a bis 2c.....	78
4.9.1	Körpergewicht.....	78
4.9.2	Hodenvolumen .....	80
4.9.3	Testosteron .....	83
4.10	Weibliche Tiere der Gruppe 1 [Gruppenhaltung] .....	84
4.10.1	Körpergewicht.....	84
4.10.2	Zykluslängen.....	87
4.10.3	Hormone .....	90
4.11	Weibliche Tiere der Gruppen 2 und 3 [Paarhaltung] .....	92
4.11.1	Menstruationsdaten (Gruppe 2) .....	92
4.11.2	Menstruationsdaten (Gruppe 3) .....	95
5	DISKUSSION.....	97
6	ZUSAMMENFASSUNG .....	105
7	SUMMARY .....	107
8	LITERATUR .....	109

Teile dieser Arbeit sind in folgende Veröffentlichungen mit eingegangen bzw. wurden bereits veröffentlicht

**Peer reviewed article**

Niehoff MO, Bergmann M, Weinbauer GF: Effects of social housing of sexually mature male cynomolgus monkeys during general and reproductive toxicity evaluation.

Reproductive Toxicology 2009; **29**: 57-67

Weinbauer GF, Niehoff MO, Niehaus M, Srivastav S, Fuchs A, van Esch E, Cline JM: Physiology and endocrinology of the ovarian cycle in macaques. Toxicol Pathol Supplement 2008; **36**: 7S-23S

**Poster**

Weinbauer GF, Niehoff MO, Bergmann M, Müller W: Effects of group housing on reproductive parameters in the sexually mature cynomolgus monkey. Society of Toxicology, 2005

Niehoff MO, Bergmann M, Müller W, Weinbauer GF: Feasibility of group housing of sexually mature cynomolgus monkeys for reproductive toxicity studies. Society of Toxicology, 2007

Niehaus M, Niehoff MO, Weinbauer GF: Menstrual cyclicity pattern of pair-housed and group-housed cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). Teratology, 2007

## Verzeichnis der Abkürzungen/Glossar

EKG	:	Elektrokardiogramm
DNA/DNS	:	Desoxyribonukleinsäure
LH	:	Luteinisierendes-Hormon
FSH	:	Follikelstimulierendes-Hormon
Gn-RH	:	Gonadotropin-freisetzendes-Hormon
HVL	:	Hypophysenvorderlappen
CG	:	Chorion Gonadotropin
CRH	:	Corticotropin-freisetzendes-Hormon
ACTH	:	Adrenocorticotropes Hormon
ASD	:	4-Androsten-3,17-dion
SHGB	:	Sexualhormon-bindendes-Globulin
DHT	:	Dihydrotestosteron
TBIL	:	Gesamt Bilirubin
CREA	:	Kreatinin
BU	:	Blutharnstoff
GLDH	:	Glutamat-Laktat-Dehydrogenase
AST	:	Aspartat-Aminotransferase
ALT	:	Alanin-Aminotransferase
AP	:	Alkalische Phosphatase
GGT	:	Gamma-Glutamyl-Transferase
GLUC	:	Glukose
CHOL	:	Gesamt Cholesterin
TRIG	:	Triglyceride
PHOS	:	Phosphat
CA	:	Kalzium
NA	:	Natrium
K	:	Kalium
CL	:	Chlor
TP	:	Gesamt Eiweiß
ALB	:	Albumin
RIA	:	Radioimmunoassay
ELISA	:	Enzym-linked-immunosorbent-Assay
J <sup>125</sup>	:	radioaktiv markiertes Jod
%	:	Prozent
KGW	:	Körpergewicht

## 1 EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Mit dem Bestreben, für die Haltung von Labortieren neue Richtlinien (ETS123) festzulegen, kommen auf die Labore, in denen Tiere zu Versuchszwecken gehalten werden, neue Herausforderungen zu. Besonders die Haltungsbedingungen für Primaten sollen im Rahmen dieser Richtlinien umfassend reformiert werden. Dabei ist eine der Hauptforderungen, den kognitiven Fähigkeiten der Tiere gerechter zu werden („Environmental Enrichment“). So soll beispielsweise das Platzangebot in den Käfigen deutlich vergrößert und den Tieren eine regelmäßig wechselnde Einrichtung (Holzspielzeug, Pflanzen usw.) innerhalb der Käfige zur Verfügung gestellt werden. Außerdem sollen in den Käfigen sowohl vertikale als auch horizontale Strukturen integriert werden, um dem angeborenen Fluchtrefflex Rechnung zu tragen. Sehr viel weitreichender sind aber die Neuerungen in Bezug auf die sozialen Ansprüche der Tiere. Primaten sind von Natur aus sozial lebende Tiere, und die in der biomedizinischen Forschung häufig verwendeten Arten (*Macaca fascicularis* und *Macaca mulatta*) leben in der freien Wildbahn in großen Gruppen. Daher fordern die neuen Richtlinien für die Haltung und Unterbringung von Labortieren, diese überwiegend in Gruppen zu halten und nur noch in begründeten Ausnahmefällen auf eine Einzelhaltung zurückzugreifen.

Diese Neuerung hat vor allem für toxikologische Prüfungen, die in der biomedizinischen Forschung gesetzlich gefordert sind, weitreichende Konsequenzen. Im Rahmen solcher Studien werden neue Arzneimittel bzw. deren Wirkstoffe (Prüfsubstanzen) auf ihre Verträglichkeit oder Toxizität geprüft. Dabei wird eine definierte Anzahl von Tieren zufällig in Gruppen eingeteilt, wobei es auch immer Kontrollgruppen gibt, die anstelle des Wirkstoffes lediglich mit der Trägerflüssigkeit (Vehikel) appliziert werden. Eventuelle toxische Befunde am Ende der Studie werden dann in aller Regel mit den erreichten Plasmaspiegeln (der Menge an Prüfsubstanz im Blut) korreliert. Aus diesem Grund ist es in der Toxikologie von enormer Bedeutung, jeglichen Austausch von Körperflüssigkeiten, wie zum Beispiel Urin, Speichel oder Kot unter den Tieren zu vermeiden, da es dadurch zu einem Austausch solcher Substanzen oder deren Metabolite kommen kann. Sollte beispielsweise ein Tier der Kontrollgruppe mit der Testsubstanz „kontaminiert“ werden, wäre die Studie nicht mehr auswertbar und müsste gegebenenfalls wiederholt werden.

Im Zuge der Gruppenhaltung ist es immer wieder vorgekommen, dass sich einzelne Tiere innerhalb einer Gruppe nicht vertragen was unweigerlich zu Verletzungen, und schließlich zum Ausschluss aus dem Versuchsvorhaben führen kann. Ferner sind Primaten - anders als die meisten anderen Laborspezies wie zum Beispiel dem Hund - nicht domestiziert und treten dem Menschen gegenüber unter Umständen sehr aggressiv auf. Aus diesem Grund stammen die Referenzdaten, die zur Interpretation aktueller Studien herangezogen werden, häufig von Tieren, die nicht in Gruppen gehalten wurden. In einem Teilgebiet der Toxikologie - der Reproduktionstoxikologie - ist dieser Datensatz von enormer Bedeutung, insbesondere wenn der Einfluss einer Prüfsubstanz auf Fertilitätsparameter (z.B. Hormone, Spermienmotilität, Menstruationszyklus) untersucht wird.

Da die Versuchstiere für ein Versuchsvorhaben speziell zusammengesetzt werden (nach Abschluss aller Voruntersuchungen und/oder Eignungstests), ist mit dem Ausbilden einer neuen sozialen Rangordnung, insbesondere bei geschlechtsreifen Tieren, innerhalb einer Gruppe zu rechnen. Hier muss nun sicher gestellt sein, dass in der Auswertung später unterschieden werden kann, ob ein ermittelter Effekt substanzbedingt oder eher ein Resultat der neuen Gruppenkonstellation ist.

In der Toxikologie werden die Tiere in einem laufenden Versuchsvorhaben mindestens einmal täglich, häufig aber auch mehrmals am Tag, für Routineuntersuchungen (Applikationen, Blutentnahmen, die Aufzeichnung von Elektrokardiogrammen, Augenuntersuchungen) aus dem Käfig genommen. Hier stellt sich die Frage, welche Umgebung für die Tiere mit dem geringsten Stress verbunden, dabei aber dennoch akzeptabel ist.

Im Folgenden soll die Frage untersucht und diskutiert werden:

Welchen Einfluss haben die Zusammenstellung neuer Gruppengröße und Gruppenkonstellation auf Routineparameter der Toxikologie (Leberwerte, Nierenwerte, Körpergewicht) und auf Fertilitätsparameter (Hodengröße, Spermienzahl und Spermienmotilität, Menstruationszyklus, Hormonspiegel) bei geschlechtsreifen männlichen und weiblichen Makaken (*Macaca fascicularis*)?

## **2 LITERATURÜBERSICHT**

### **2.1 Primaten in der biomedizinischen Forschung**

Tierversuche am Primaten stellen auch heute noch einen wichtigen Bestandteil der biomedizinischen Forschung dar, weil Primaten die menschliche Physiologie wie kein anderes Tiermodell widerspiegeln (Smith et al. 2002). Aktuelle Literaturrecherchen zeigen, dass ungefähr 100.000 „nicht humane Primaten“ weltweit in der Wissenschaft pro Jahr verwendet werden, hauptsächlich in Japan und den USA. Ungefähr 65 % der Tiere sind Altweltaffen, wobei die Makaken hier mit ca. 60 % den größten Anteil ausmachen (Carlsson et al. 2004, Hagelin 2004). In Europa wurden im Jahr 2002 etwa 8075 Altweltaffen für experimentelle Zwecke verwendet, 6100 davon alleine für toxikologische Fragestellungen (Sauer et al. 2005). Primaten stellen eines der wichtigsten Modelle zum Studium bestimmter Krankheiten des Menschen dar, was in erster Linie auf das fast identische Genom zurück zuführen ist (Saitou 2005). Neuwelt- und Altweltaffen weisen eine 85 bis 92prozentige Sequenzhomologie mit dem Menschen auf (King et al. 1988), beim Schimpansen sind es sogar 98.4 Prozent (Watanabe et al. 2004). So wurden Dank des Einsatzes von Primaten in vielen Forschungsbereichen große Fortschritte erzielt. Die Entdeckung des Rhesusfaktors beispielsweise geht auf eine der am häufigsten verwendeten Primaten Spezies, den Rhesusaffen (*Macaca mulatta*), zurück (Übersicht bei Korte et al. 1999). Auch im Rahmen der Medikamentenentwicklung, hier in der präklinischen Phase der Zulassung, sind Versuche (toxikologisch und pharmakologisch) an Primaten unumgänglich (Carlsson et al. 2004). So zeichnen sich die Tiere beispielsweise durch ihren gut ausgebildeten cerebralen Kortex aus, wodurch sie zu idealen Modellen werden, um die Mechanismen der Alzheimer und Parkinson Erkrankungen zu untersuchen (Kordower et al. 1986). Auch für bestimmte Augenerkrankungen, wie der Makulopathie, stellen die Primaten ein ideales Model dar, weil ihr gesamtes visuelles System, einschließlich der Retina, in Entwicklung, Aufbau und Funktion dem des Menschen sehr ähnlich ist (Samimi 2005). Arteriosklerose oder generell koronare Erkrankungen können ebenfalls sehr gut am Primaten studiert werden, da sowohl spontane, wie auch induzierte Arteriosklerosen beschrieben wurden (Williams et al. 2004). Des Weiteren entwickeln die Tiere eine dem Menschen in Geschwindigkeit und Ausprägung vergleichbare Form der postmenopausalen Osteoporose (Jerome und Peterson 2001, Mohr und Niehoff 2002).

Als Folge des Contergan-Desasters in den 60er Jahren gewann der Primat immer größere Aufmerksamkeit im Rahmen entwicklungstoxikologischer Fragestellungen (Stahlmann und Thiel 1999, Hendrickx und Binkert 1990, Hepp-Reymond 2000). Neben diesen Beispielen aus der medizinischen Forschung eignen die Primaten sich auch sehr gut um verhaltensbiologische Untersuchungen und kognitive Wahrnehmungen zu untersuchen (Martinez-Trujillo und Treue 2004).

## **2.2 Tierhaltung in toxikologischen Prüfungen**

Eine der wichtigsten Anforderungen an den Tierversuch ist, dass diese immer zu 100 % nachvollziehbar und reproduzierbar sein müssen. Daher ist es notwendig, die Untersuchungen unter standardisierten Laborbedingungen durchzuführen. Außerdem sollten nicht schon durch den Studienaufbau Änderungen in dem verwendeten Tiermodell induziert werden. Zu den standardisierten Laborbedingungen gehören ein konstanter hell/dunkel Rhythmus, sowie genau definierte Temperatur und Luftfeuchte Bereiche. An saisonalen Tieren, wie dem Rhesusaffen, wurde nachgewiesen, dass die Saisonalität unter standardisierten Laborbedingungen komplett verloren gehen kann, nach nur kurzer Sonnenlichtexposition aber wieder auflebt (Herndon et al. 1985). Die amerikanische Behörde für Landwirtschaft hat in den „US Animal Welfare Regulations“ für Labortiere (Hunde, Katzen, Hamster, Kaninchen und Primaten) festgelegt, dass das Licht gleichmäßig in den Tierställen verteilt sein muss und berücksichtigt dabei, dass verschiedene Lichtintensitäten unterschiedliche wissenschaftliche Ergebnisse nach sich ziehen können (Reinhardt 2004). Aber auch die Aufzeichnung und Auswertung von Futter- und Wasserverbrauch oder der Kotbeurteilung muss in diesen Experimenten gewährleistet sein. Sollte also eine individuelle Beurteilung dieser Parameter notwendig sein, kann der Versuch nur an Tieren durchgeführt werden, die einen individuellen Zugang zu Futter und Wasser haben.

### **2.2.1 Käfigtypen**

Die Vor- bzw. Nachteile unterschiedlicher Käfigtypen und auch die Haltungsbedingungen wurden ansatzweise bereits untersucht. Die von Kerl und Rothe (1996) beim Marmoset (*Callithrix jacchus*) durchgeführten telemetrischen Aufzeichnungen der Herzraten deuten darauf hin, dass eine Zunahme der Käfiggröße allein die Herzraten nicht positiv beeinflusst.

Ähnliches konnten auch Untersuchungen an Makaken (*Macaca fascicularis* und *Macaca nemestrina*) belegen (Crockett et al. 1995 und 2000). Neuere Untersuchungen zeigen jedoch, dass ein komplexes Umfeld innerhalb der Käfige (beispielsweise mit „on demand video screen“) die Tiere durchaus positiv beeinflusst und sich positiv auf deren Wohlbefinden auswirkt (Kiyama et al. 2003). Um den enormen kognitiven Fähigkeiten dieser Tiere gerecht zu werden, sollten sie permanent einer Beschäftigung nachgehen und gefordert werden. So kann das Futter beispielsweise direkt in das Substrat des Käfigbodens eingebracht werden, um die Tiere zur Futtersuche („Foraging“) zu ermuntern, womit sie auch in der Wildnis einen großen Teil des Tages verbringen (Ferroz 1998, Reinhardt und Garza-Schmidt 2000). Das Einbringen von Pflanzen in einen Primatenkäfig stellte sich als ein brauchbares Mittel heraus, die Qualität des Käfigs zu steigern (Chamove 2005). Musik kann die Tiere ebenfalls positiv beeinflussen, was bei Schimpansen sogar mit bestimmten Musikrichtungen zu korrelieren scheint (Howell et al. 2003, Harvey et al. 2000). Als eine der wichtigsten Käfigbeigaben werden „Rückzugsmöglichkeiten“ angesehen, wie für die unterschiedlichen Versuchstiere gezeigt werden konnte, vom Ochsenfrosch (Hedge et al. 2002) bis zum Primaten (McCormack und Megna 2001). Beobachtungen deuten darauf hin, dass Labortiere genauso viel Zeit mit sozialen Interaktionen, beispielsweise der Fellpflege verbringen, wie Tiere die in freier Wildbahn leben (Reinhardt 1997, Lynch 1997). Ein komplexes Umfeld innerhalb des Käfigs, wirkt sich bei Primaten jedoch immer positiv aus (Lutz et al. 2003b, Wolfensohn 2004, Wolfle 2005). Schub und Eisenstein (2003) unterteilen die hilfreichsten Käfigausstattungen in a: manipulable devises (Bälle, Rasseln, Spiegel), b: foreaging devises (Tablets, Tube feeders) und c: structural devises (Sitzbänke, Schaukeln) und geben einen guten Überblick über mögliche Käfigbeigaben.

### **2.2.2 Einzelhaltung versus Gruppenhaltung**

Da Primaten nicht domestiziert sind und ihr Territorium teilweise sehr aggressiv verteidigen, kann es nicht selten zu Verletzungen der Tiere kommen, mit der Folge, einzelne Tiere aus einer laufenden Studie ausschließen zu müssen (Kessler et al. 1985, Hambright und Deborah 2003). Besonders wenn es um die Konkurrenz im Rahmen der Verpaarung geht, konnte beim Rhesusaffen eine starke Aggressivität nachgewiesen werden (Rilling et al. 2004). Ferner geht man davon aus, dass die Infektionsgefahr bei Tieren, die in Paaren oder in Gruppen gehalten werden größer ist als bei einzeln gehaltenen Tieren und dass die Tiere von dem Partner schon nach kurzer Zeit gelangweilt sind (Reinhardt 1995).



Verhaltensauffälligkeiten oder Stereotypen wurden hingegen häufiger bei einzeln gehaltenen Tieren beobachtet als bei Tieren, die in Gruppen lebten (Tiefenbacher et al. 2004). In einem renommierten, amerikanischen Forschungszentrum zeigten 321 von insgesamt 362 einzeln gehaltenen Rhesusaffen wenigstens ein abnormales Verhaltensmuster, wobei das „Pacing“, also ein immer wiederkehrendes Verhaltensmuster, z. B. immer gleiche Laufwege, hier deutlich dominierte (Lutz et al. 2003a). Bei einzeln gehaltenen Pavianen wurde beobachtet, dass sie mehr als 20 % ihrer Zeit mit abnormalem Verhalten verbringen (Bourgeois und Brent. 2003). In einigen Veröffentlichungen wird postuliert, dass eine der am offensichtlichsten Verhaltensauffälligkeit – das sogenannte Self-Injury-Behaviour (SIB), bei dem sich die Tiere selbst verletzen – in größeren Kolonien mit einzeln gehaltenen Primaten bei 14 % (Novak 2003) bis 39 % (Alexander und Fontenot 2003) liegt. Auch zu früh von der Mutter entwöhnte und in Menschenhand oder Einzeln aufgezogene Tiere entwickeln eher Verhaltensauffälligkeiten als andere (Bayne et al. 1992, Suzuki et al. 2001, Bellanca und Crockett 2002).

### **2.3      Haltungsbedingungen und Stress**

Frühe Untersuchungen am weiblichen Totenkopffäffchen (*Samiri sciureus*) zeigen, dass die Gruppenhaltungsbedingungen den Kortisolspiegel der Tiere in einer sehr komplexen Weise eindeutig beeinflussen, und zwar in Abhängigkeit von dem individuellen Rang entweder erhöhen oder eben senken (Gonzalez et al. 1982). Aus Versuchen mit Marmoset Affen (*Callithrix jacchus*) ist bekannt, dass die Konfrontation mit nicht gleichgeschlechtlichen Artgenossen in deutlich erhöhten Herzraten, höherem Blutdruck und dem Auftreten aggressiveren Verhaltens einher geht (Gerber und Schnell 2004). Andere Arbeiten haben gezeigt, dass der Marmoset auf den Transfer aus einer sozialen Gruppenhaltung in eine isolierte Einzelhaltung zwar mit vermehrten „Trennungslauten“, aber unveränderten Kortisolspiegeln, reagiert (Norcross und Newman 1999). Untersuchungen am Rhesusaffen zeigten aber, dass sowohl die Isolation als auch die Konfrontation mit einem unbekannten Artgenossen in stark erhöhten Kortisolspiegeln und deutlich aggressiverem Verhalten resultierte (Aureli et al. 1999, Lutz et al. 2003b). Das gehäufte Auftreten aggressiven Verhaltens von in Gruppen gehaltenen Tieren konnte am Rhesus- und am Javaneraffen gezeigt werden (Augustsson und Hau 1999, Stahl et al. 2000).

Durch Untersuchungen an Lemuren konnte gezeigt werden, dass die 1990 von Wingfield et al. für Vögel, Reptilien und Fische aufgestellte „Challenge Hypothese“ („....die Frequenz und Intensität aggressiven Verhaltens, als ein Effekt des Testosterons, ist am stärksten in Situationen sozialer Instabilität, beispielsweise beim Ausbilden einer neuen Rangordnung, ausgeprägt....“) auch für Säugetiere gilt (Wingfield et al. 1990, Cavigelli und Pereira 2000). Es kommt auch innerhalb von in Gefangenschaft lebenden Javaneraffen zur Ausbildung einer klaren, linearen Hierarchie, genau wie sie bei Tieren in der freien Wildbahn beobachtet wird (Sapolsky 2005). An Gorillas wurde nachgewiesen, dass auch hier sozial lebende Tiere niedrigere Kortisolspiegel aufweisen als einzeln lebende Tiere (Stoinski et al. 2002). Die Neuformierung einer Gruppe von Tieren resultiert in erhöhten Kortisolspiegeln und veränderten immunologischen Parametern, mit erniedrigten Lymphozytenzahlen, CD4+ und CD8+ Zellen, was ebenfalls ein Indiz für ein erhöhtes Stressniveau sein könnte (Gust et al. 1991). So wurden diese Ergebnisse auch dahingehend revidiert, dass bei Tieren, die sich längere Zeit innerhalb einer Gruppe bewegten, niedrigere Kortisolspiegel gemessen wurden, als bei Tieren, die keinerlei sozialen Kontakt hatten (Soltis et al. 2003). Des Weiteren gibt es zahlreiche Untersuchungen, die von den Möglichkeiten des Trainings von Labortieren berichten, mit der Folge, das Stressniveau deutlich zu reduzieren. Dabei kooperierten Primaten zur Blutentnahme, bei der Medikamentenverabreichung oder anderen täglichen Laborroutinen, wovon einerseits die Tiere, aber auch das mit den Tieren arbeitende Laborpersonal profitieren (Crouthamel und Sackett 2004, Young 1997, Vertein und Reinhardt 1989, Knowles und Fourrier 1995). Bei Schimpansen konnte gezeigt werden, dass Training das Stresslevel deutlich senkt, aber auch, dass das Training ständig und fortlaufend weiter betrieben werden muss (Videan et al. 2005).

## **2.4 Hormonelle Funktionskreise**

Reproduktion und Stoffwechsel werden gleichzeitig vom Nervensystem und vom Endokrinium (die Gesamtheit aller endokrin aktiven Organsysteme) gesteuert (Scholtysik et al. 2000). Gemeinsam mit dem Nervensystem dient es der funktionellen Integration und Koordination der verschiedenen Organsysteme mit der Umwelt. Mit beiden Systemen werden auf neuronalem bzw. hormonellem Weg Signale übermittelt, die der Steuerung des Stoffwechsels oder der Regulierung des inneren Milieus, der Homöostase, dienen (Mendoza et al. 2000). Darüber hinaus steuern sie auch die zur Fortpflanzung notwendigen Organfunktionen sowie das Verhalten.

In diese Steuerung greifen Reize aus der Umwelt, psychisch-emotionale Faktoren und Rückkoppelungsfaktoren innerhalb des Organismus ein (Radespiel et al. 2002).

Der Begriff „Hormon“ wurde von Döcke wie folgt definiert: “Hormone sind interzellulär wirksame chemische Boten unterschiedlicher Struktur, die in spezifischen differenzierten Zellen gebildet werden oder enzymatisch veränderte Bluteiweiße darstellen und lokal oder in entfernt gelegenen Zellen spezifische biologische Wirkungen ausüben.

Nach der Bindung an Zellmembran oder intrazelluläre Rezeptoren steuern sie über Zyklasen und intrazelluläre chemische Boten oder über eine Beeinflussung der Genexpression unterschiedlichste Zellfunktionen, insbesondere aber die Bildung und Aktivierung von Enzymen“ (Döcke 1981, Labes 2003). Die Bildung der meisten Hormone geht von Aminosäuren aus. Durch Modifikation der Aminosäure Tyrosin werden im Nebennierenmark Dopamin, Noradrenalin und Adrenalin, in der Schilddrüse Tyroxin (T4) und Trijodthyronin (T3) gebildet. Die Muttersubstanz der Steroidhormone ist das vom Organismus synthetisierte oder mit der Nahrung aufgenommene Cholesterin (Thomas 1996).

#### 2.4.1 Die Steroidhormonbiosynthese

Cholesterin (siehe Abb. 1) ist die Vorstufe der fünf Hauptklassen von Steroidhormonen: für Gestagene, Glucocorticoide, Mineralocorticoide, Androgene und Östrogene.

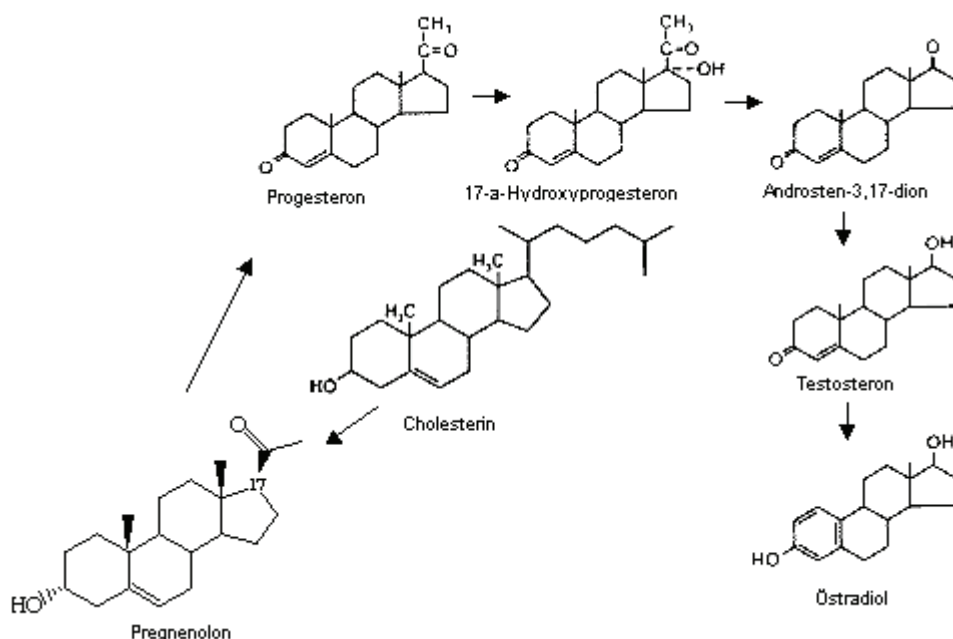


Abbildung 1: Die chemische Struktur des Cholesterin Moleküls, aus: Thomas C, Gebert G: Grundlagen der klinischen Medizin, Bd.5, Endokrines System (modifiziert).

Steroidhormone haben 21 oder weniger Kohlenstoffatome, Cholesterin dagegen hat 27. In einem ersten Syntheseschritt wird eine C6 Einheit aus dem Cholesterinmolekül abgespalten, wodurch Pregnenolon entsteht. Dieser Syntheseschritt wird durch das adrenocorticotrope Hormon (ACTH) aus dem Hypophysenvorderlappen stimuliert. Über Oxidation der Hydroxylgruppe (OH) entsteht das Progesteron, welches über Hydroxylierung am C17 und Seitenkettenabspaltung zum Androsten-3,17-dion wird. Durch eine Reduktion der C17-Ketogruppe im Androsten-3,17-dion wird letztendlich das Testosteron gebildet. Über die Entfernung des C19 Ringes und Aromatisierung von Ring A wird aus dem Testosteron Östradiol. Im weiblichen Organismus werden die Gestagene und Östrogene hauptsächlich in den Follikeln der Ovarien gebildet, im männlichen Organismus hingegen, werden die Androgene weit überwiegend von den Leydigschen Zwischenzellen des Hodens gebildet. Der Abbau erfolgt in der Leber, wobei die Metabolite teils über die Nieren, teils über die Galle ausgeschieden werden. Die Produktion von Östradiol schwankt dabei zyklusabhängig, und die Aktivität der Testosteron produzierenden Zellen unterliegt ebenfalls einem zeitlichen Rhythmus (vergleiche 2.4.2).

#### **2.4.2 Wirkungsmechanismus**

Die Produktion von Follikelstimulierendes Hormon (FSH) durch die Hypophyse kann als Ausgangspunkt des weiblichen Menstruationszyklus betrachtet werden. Unter dem Einfluss von FSH entwickeln sich in den ersten beiden Wochen in den Ovarien die Follikel. Die steigenden Mengen an FSH im Blut stimulieren die Follikelzellen zur Herstellung von Östrogen, wodurch die Uterusschleimhaut regeneriert wird. Steigende Mengen hemmen die FSH-Produktion durch negative Rückkopplung der Hypophyse. Große Mengen Östrogen fördern dagegen durch positive Rückkopplung die LH-Produktion der Hypophyse, was zum schnellen Wachstum der Follikel und zur Ovulation führt. Unter dem Einfluss von LH bilden sich die Follikel durch Einlagerung großer Follikelzellen, die ein gelbliches Pigment enthalten, zum Gelbkörper um. Der Gelbkörper produziert dann das Hormon Progesteron. Dieses hemmt in der Sekretionsphase die GnRH-Produktion des Hypothalamus und dadurch die FSH/LH-Bildung der Hypophyse (negative Rückkopplung). Nistet sich keine befruchtete Eizelle in die Uterusschleimhaut ein, degeneriert der Gelbkörper und die Hormonspiegel von Östrogen und Progesteron fallen stark ab.

Das führt schließlich zur Abstoßung der Uterusschleimhaut, ein Vorgang der als Menstruationsblutung bezeichnet wird (vergleiche 2.4.3).

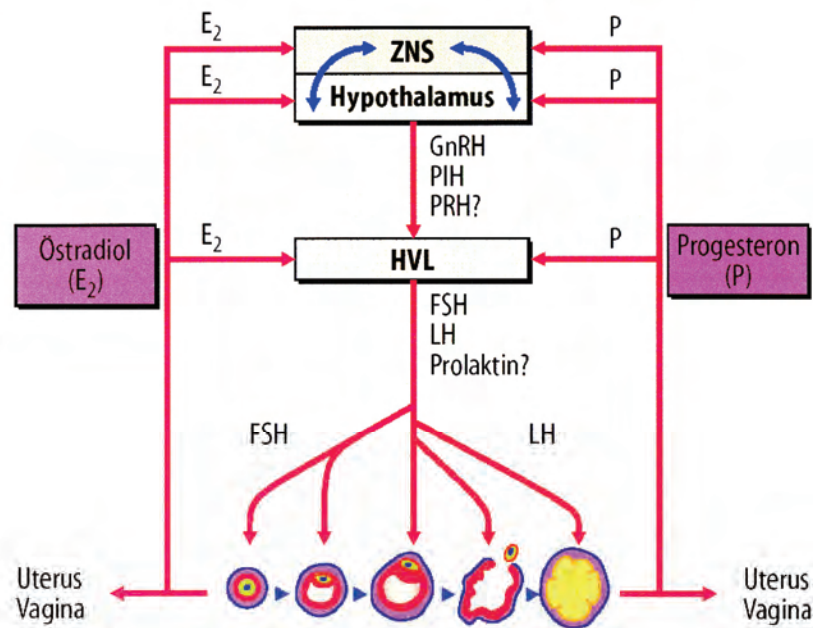


Abbildung 2: Wuttke W. Regulation der Gonadenfunktion bei der Frau. In: Schmidt RF, Thews G: Physiologie des Menschen. 28. Auflage 2000 Kapitel 22.

Der Hypophysenvorderlappen produziert FSH und LH. Diese Sekretion wird von GnRH aus dem Hypothalamus eingeleitet und hält das ganze Leben lang an. Die Testosteronproduktion wird beim Mann durch die Ausschüttung von LH stimuliert, hohe Östrogenspiegel hemmen die FSH-Sekretion. Testosteron beeinflusst seinerseits die LH-Sekretion bei niedrigen Konzentrationen im Sinne positiver, und bei hohen Konzentrationen im Sinne negativer Rückkopplung. Das zweite Gonadotropin FSH regt die Inhibin Sekretion an und ist essentiell für die Spermiogenese. Das Inhibin wiederum hemmt in hohen Konzentrationen die FSH Ausschüttung. Die Sertolizellen des Hodens besitzen FSH-Rezeptoren, über die sie zur Synthese von Androgen-Binding-Protein angeregt werden, sodass sie Testosteron und das stärker wirksame 5 $\alpha$ -Dihydrotestosteron in ihrem Zytoplasma anreichern können. Die Sertolizellen sind auch in der Lage, Inhibin zu synthetisieren, das die Freisetzung gonadotroper Hormone im HVL hemmt.

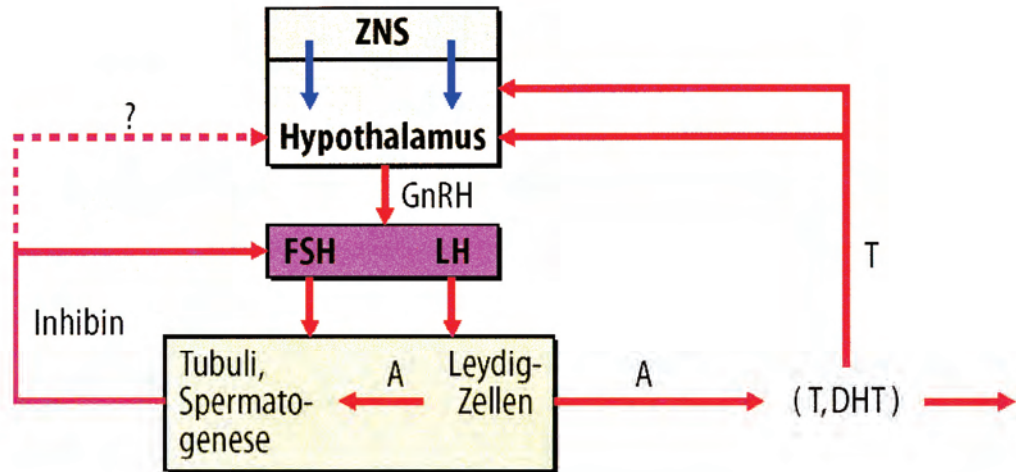


Abbildung 3: Wuttke W. Hormonelle Regelkreise im männlichen Organismus. In: Schmidt RF, Thews G: Physiologie des Menschen. 28. Auflage 2000 Kapitel 22.

### 2.4.3 Der Ovulationszyklus

Der Ovulationszyklus einiger Makakenarten spiegelt den des Menschen sehr genau wieder. Darum sind sie ideale Modelle zum Studium der menschlichen Fortpflanzung und Endokrinologie. Dabei gibt es offenbar keine wichtigen Unterschiede zwischen dem Kurzschwanz Makaken (*Macaca arctoides*) oder dem Javaneraffen (*Macaca fascicularis*) in Hinblick auf den Zyklus oder die Ovarienfunktionen (Fraser und Lunn 1999). Innerhalb einer Gruppe freilebender Japanmakaken (*Macaca fuscata*) zeigten sich Ovulationen von Oktober bis November und von Mitte bis Ende November. Die durchschnittliche Trächtigkeit beträgt hier 176 Tage (Fujita et al. 2004). Der Rhesusaffe (*Macaca mulatta*) hingegen zeichnet sich durch seine Saisonalität aus. Die Zykluslänge beträgt beim Menschen 28 bis 30 Tage, beim Kurzschwanz Makaken 29 bis 31 Tage und beim Javaneraffen im Mittel 30 Tage (Vogel und Bee 1999). Die Länge des Menstruationszyklus wird dabei offenbar durch die Dauer der erhöhten Progesteronwerte, oder durch die Lebensdauer des Corpus Luteum bestimmt (Shaikh et al. 1978). Einem Östradiol Anstieg folgt ein ausgeprägter LH Anstieg am Tag der Ovulation und ein kontinuierlicher Anstieg des im Corpus Luteum produziertem Progesterons (Abbildung 4). Die erhöhte Östrogenproduktion wird durch eine vermehrte FSH Sekretion aus der Hypophyse induziert. Durch den Niedergang des Gelbkörpers nach der Ovulation fallen auch die Progesteron und Östrogenwerte wieder ab und das sekretorisch aufgebaute Endometrium wird abgestoßen (vergleiche Abbildung 2).

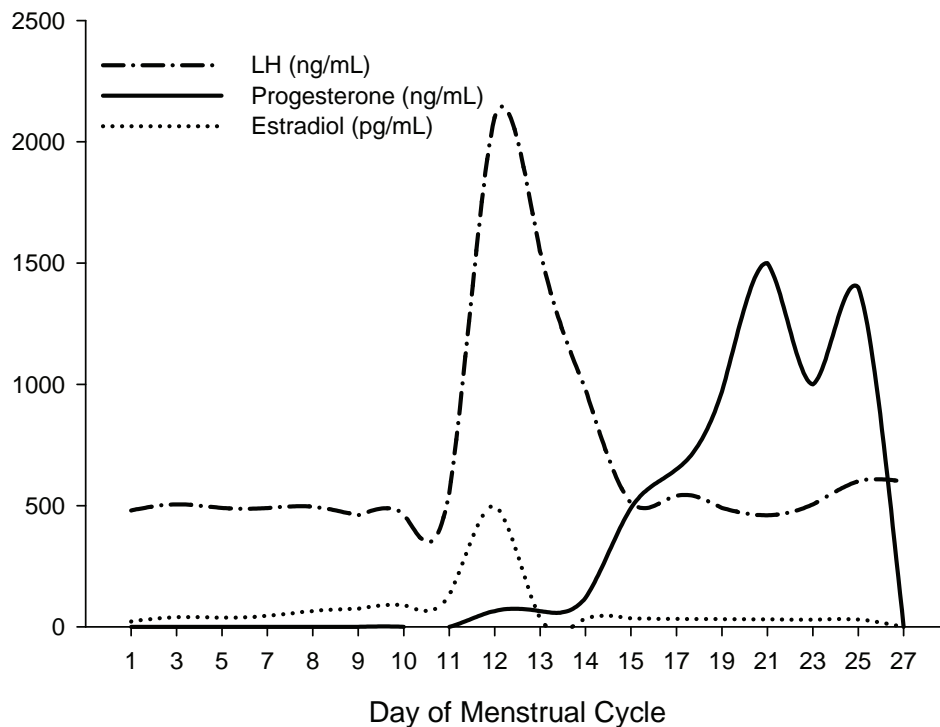


Abbildung 4: Hormonprofil im Zusammenhang zum Menstruationszyklus bei Cynomolgen, aus: *Reproduction in Nonhuman Primates*, Eds. R Korte, GF Weinbauer (modifiziert).

#### 2.4.4 Die Steuerung der Spermatogenese

Im Hoden werden die männlichen Gameten produziert und die männlichen Steroidhormone (Androgene) synthetisiert. Unter dem Begriff Spermatogenese werden alle an der Entstehung des Gameten beteiligten Prozesse subsumiert (Nieschlag et al. 2000). Die Spermatogenese bei den Altweltaffen (Catarrhini) wird, wie beim Menschen, über ein komplexes, hormonelles Zusammenspiel zwischen Testosteron und FSH, die direkt auf die Spermatogenese in den Sertolizellen wirken sowie LH [bei Männern auch als Intertitialzellen stimulierendes Hormon (ICSH) bezeichnet], das über das Testosteron aus den Leydigischen Zwischenzellen wirkt, gesteuert (Vogel und Bee 1999). Aktuelle Arbeiten deuten jedoch darauf hin, dass bei den Neuweltaffen (Platyrrhini) nicht das LH oder ICSH, sondern das Chorion Gonadotropin (CG), die Testosteronproduktion reguliert. Die Spermatogenese zeigt sich dabei zwischen den unterschiedlichen Primatenarten (Alt- und Neuweltaffen) weitestgehend konserviert. Endokrinologisch gibt es dabei aber offenbar Unterschiede (Luetjens et al. 2005). Untersuchungen an 17 unterschiedlichen Primatenarten zeigten keinen Unterschied in der Effektivität der Spermatogenese, auch wenn diese zellulär unterschiedlich geregelt ist (Wistuba et al. 2003).



Gleichwohl gibt es offensichtliche Unterschiede in der Menge der täglichen Spermienproduktionen (Schrod 2002) zwischen den unterschiedlichen Spezies (Tabelle 1).

Im Javaneraffen (*Macaca fascicularis*) werden die ersten Spermatozyten ab einem Alter von 3-4 Jahren (Körpergewicht  $3.24 \pm 0.15$  kg) gebildet und die komplette Spermatogenese wurde ab einem Alter von 3.6 - 4.3 Jahren (Körpergewicht 3.5 - 3.8 kg) nachgewiesen (Dang und Meusy-Dessolle 1984).

Tabelle 1: Spermienkonzentrationen in Ejakulatproben von Tieren unterschiedlicher Spezies. (Schrod 2002, leicht verändert)

Spezies	N	Masse der Probe (mg)	Spermienkonz. (Anzahlx10 <sup>6</sup> /g)	Anteil lebender Spermien (%)	Anteil toter Spermien (%)	Anteil des Ejakulates am Körpergewicht (‰)	Prozent veränderte Spermien (%)
<i>Callithrix jacchus</i>	6	40	218	57.9	42.1	0.12	22.6
<i>Macaca fascicularis</i>	6	478.9	538	73.5	26.5	0.07	16.8
<i>Pan paniscus</i>	2	630	228	93	7	0.02	14.3
<i>Homo sapiens</i>	6	2750	154	80.5	19.5	0.04	30.7

## 2.5 Haltungsbedingungen, Stress und Reproduktion

Es gibt bis heute nur wenige Untersuchungen, die sich mit den Auswirkungen des durch eine Gruppenhaltung induzierten Stresses auf die Reproduktionsbiologie männlicher und weiblicher Javaneraffen beschäftigen. An weiblichen Rhesusaffen konnte gezeigt werden, dass unter akutem Stress in der Lutealphase des Menstruationszyklus die Progesteronsekretion deutlich abnimmt, wobei die Länge der Lutealphase unverändert bleibt (Xiao et al. 1999). Ziegler et al. fanden bei weiblichen Tamarinen (*Saguinus oedipus*) generell erhöhte Kortisolspiegel in der Vorovulationsphase („perioovulatory period“) im Vergleich mit der nicht Vorovulationsphase („nonperioovulatory period“) des Ovulationszyklus (Ziegler et al. 1995). Es ist bekannt, dass Injektionen des adrenocorticotropen Hormons (ACTH) den Menstruationszyklus im Rhesusaffen unterbrechen können, da die erhöhte ACTH Konzentration eine verminderte Ausschüttung von Östrogen, Luteinisierendes Hormon (LH) und Progesteron zur Folge hat (Moberg et al. 1982).



Später wurden diese Beobachtungen weiter spezifiziert und die Effekte eindeutig auf die durch die erhöhten ACTH Konzentrationen induzierten hohen Kortisolspiegel zurückgeführt. Dabei waren durch die erhöhten ACTH bzw. Kortisolspiegel auch die nachfolgenden Zyklen betroffen (Hayashi und Moberg 1990).

Beides, sowohl akuter als auch chronischer Stress, kann bei vielen Primatenarten das hormonelle System stark beeinträchtigen und sogar zu einer totalen Sterilität führen (Cameron 1997). Junge, in der Kindheit vernachlässigte Rhesusaffen, zeigten in Untersuchungen deutlich erhöhte Kortisolsekretion nach Gabe eines Stressors in den ersten drei Lebensjahren. Außerdem zeigten diese Tiere ein deutlich gesteigertes Interesse an Jungtieren (Maestriperi 2006). Das reine „Handling“ der Primaten, also der Kontakt zum Menschen, führt zu einer zentralen Sekretion von CRH und so zu erhöhten ACTH- und Kortikosteroid Sekretionen, was zumindest in der Follikel-Phase des Menstruationszyklus die Sekretion von LH aus der Hypophyse vermindert (Norman et al. 1994). Allerdings wurde gezeigt, dass das Stressniveau deutlich reduziert werden kann, wenn den Tieren Belohnungen angeboten werden (Balcombe et al. 2005). Bei weiblichen Schimpansen wurde nachgewiesen, dass der direkte Kontakt mit einem männlichen Artgenossen, als eine Art Zeitgeber agiert und bei den weiblichen Tieren in deutlich stabilisierten Menstruationszyklen resultiert (Machatschke et al. 2006).

## **2.6 Reproduktionsstrategien von Primaten**

Die in dieser Arbeit untersuchte Makakenart (*Macaca fascicularis*) lebt in großen, gemischtgeschlechtlichen Gruppen. Diese setzen sich aus einer Reihe mütterlicherseits verwandter Tiere, die jeweils von einem dominanten Weibchen beherrscht werden, zusammen. Innerhalb dieser Gruppe leben aber auch viele Männchen, von denen das Alpha und Beta Tier den größten Fortpflanzungserfolg haben (Loudon et al. 2005). Für männliche Tiere innerhalb solcher Gruppen konnte gezeigt werden, dass der Fortpflanzungserfolg eindeutig davon abhängt, ob das Tier in der Lage ist, seinen dominanten Status zu bewahren (van Noordwijk und van Schaik 2001). Es kommt zu einer Monopolisierung, wobei die Weibchen während der fertilen Phasen von den Männchen bewacht werden. Die Monopolisierung wird dadurch erleichtert, dass bei den Javaneraffen die fertilen Phasen nicht synchron auftreten (Engelhard 2006). Untersuchungen am Rhesusaffen haben gezeigt, dass die dominanten Tiere engen Kontakt zu den weiblichen Tieren halten, die Tiere niederen Ranges hingegen permanenten Abstand halten.

In dieser Untersuchung konnte auch gezeigt werden, dass Tiere niederen Ranges lediglich unter Abwesenheit des dominanten Tieres zur Paarung kommt (Rilling et al. 2004). Außerdem wurde nachgewiesen, dass männliche Rhesusaffen keinen direkten, taktilen Kontakt zu Weibchen benötigen, um Veränderungen in ihrem Verhalten und Hormonstatus zu bewirken (Gordon et al 1978 und Labes 2003).

Beobachtungen innerhalb einer Gruppe von Japan Makaken (*Macaca fuscata yakui*) zeigte, dass die männlichen Tiere sich während der Paarungszeit eindeutig aggressiver verhalten, besonders wenn Tiere von außerhalb zu der Gruppe kommen. Weibliche Tiere spielen hier dann eher eine passive Rolle. Diese Beobachtung konnte außerhalb der Paarungszeiten nicht bestätigt werden (Majolo et al. 2005). Bei den meisten Ceropithecines (vergleiche 2.7) investiert das männliche Tier wenig Zeit und Energie in die Aufzucht der Jungtiere, verteidigt die Familie aber gegen Feinde (Kappeler 2000). Innerhalb von Primatenpopulationen mit offenkundiger „Male-Male Competition“ gewinnen hochrangige Tiere zwar fast immer den Kampf um Zugang zum Futter oder zu den Weibchen, eine Monopolisierung ist aber schon allein wegen der enormen Gruppengröße nicht immer möglich. Somit können auch Tiere niederen Ranges durchaus Strategien entwickeln, die ihnen eine Verpaarung außerhalb der Hierarchie ermöglicht, zum Beispiel durch das sogenannte „queue jumping“. Dabei geht man davon aus, dass das „Priority of access“ Model (Altmann 1996), welches besagt, dass der Paarungserfolg eindeutig mit dem Rang korreliert, (d.h. das hochrangigste Tier verpaart sich alleine, wenn nur ein Weibchen Paarungsbereitschaft signalisiert, das zweit höchste Männchen verpaart sich, wenn zwei Weibchen zur Verfügung stehen usw.), von den Tieren umgangen werden kann. Die Beobachtungen von Engelhardt bei Javaneraffen scheinen das zu bestätigen; allerdings haben die rangniedrigen Männchen die Weibchen, mit denen sie sich gepaart hatten, bei weitem nicht so massiv bewacht, wie es die ranghohe Tiere nach der Verpaarung getan haben. Durch Vaterschaftsanalysen konnte eindeutig nachgewiesen werden, dass fast immer die ranghohen Tiere die Väter der Kinder waren, auch wenn es zu einer zeitnahen Verpaarung mit rangniedrigeren Tieren kam. Ein entscheidender Teil von Vaterschaften wird bei dieser Primatenart also offensichtlich auch auf postkopulatorischer Ebene festgelegt (Engelhardt 2004). Das könnte ein weiterer Hinweis darauf sein, dass das Spermienkonkurrenzmodel, das besagt, dass die Spermien unterschiedlicher Spender nach der Kopulation miteinander konkurrieren, zutrifft. Bei Pavianen (*Papio cynocephalus*) kommt es beispielsweise zur Koalitionsbildung zwischen Tieren niederen Ranges, um zur Verpaarung zu gelangen

(Alberts et al. 2003). Die 1993 von Smuts et al. aufgestellte „Sexual Coercion Hypothesis“ besagt, dass männliche Tiere einerseits den weiblichen Tieren gegenüber aggressiv auftreten. Im Gegensatz dazu beschäftigen sie sich aber auch mit Jungtieren, um so den Paarungserfolg zu steigern (Smuts et al. 1993).

Untersuchungen am Javaneraffen zeigen, dass die männlichen Tiere, sowohl dominante wie auch rangniedrigere Individuen, eindeutig in der Lage sind, die fertile Phase eines ovariellen Zyklus zu erkennen, wobei die Indikatoren dieser Phase hier im Zusammenhang mit den Östrogenwerten der Weibchen zu stehen scheinen. Für weibliche Rhesusaffen geht man davon aus, dass sie zu Zeiten hoher Östrogenspiegel sogar eindeutig die Gesichter männlicher, denen der weiblichen Artgenossen vorziehen (Lacreuse et al. 2006). Auch weibliche Gorillas präsentieren sich den männlichen Artgenossen deutlich häufiger in Phasen hoher Östrogenspiegel. Außerdem wurde für weibliche Rhesusaffen, Japanmakaken, und Paviane gezeigt, dass sie mit männlichen Artgenossen besonders in der Phase des Einsprunges (periovulatory period) sexuell interagieren. Dass dieses Verhalten deutlich mit dem Hormonspiegel korreliert, zeigt sich in den Untersuchungen von Michael et al. die nachgewiesen haben, dass eine Ovariectomie einen kompletten Verlust des Sexualverhaltens nach sich zieht. Gleichzeitig aber Injektionen von Estradiol den Sexualtrieb erhöht, Injektionen von Progesteron jedoch einen gegenteiligen Effekt bewirken (Michael und Zumpe 1970). Ein gesteigertes Aggressives Verhalten (in Form vermehrten Auftretens von Bisswunden) und vermindertem Sexualverhalten, wurde bei Rhesusaffen und Pavianen in der Phase der Menstruation (perimenstrual) beobachtet, was auf die Wirkung von Östrogenen und Progesteron auf das Zentralnervensystem zurückzuführen ist. Männliche Rhesusaffen zeigten ein deutlich stärkeres Interesse an Östrogenbehandelten, ovariectomierten Tieren als an nicht Östrogenbehandelten Tieren, und dieser Östrogeneffekt wird als olfaktorischer Stimulus auf die Männchen übertragen. Mithilfe extrahierter Vaginalsekrete konnten männliche Kastraten, die nicht Östrogen substituiert wurden, zur Kopulation angeregt werden. Daher kann zum Fortpflanzungsverhalten dass soziale, hormonelle aber auch umweltbedingte Einflüsse gibt. Der Akt der Kopulation, ist das Resultat einer Reihe verschiedener Faktoren (Lamming 1984).

## 2.7 Biologie der Javaneraffen

### Systematik

Die systematische Einordnung von *Macaca fascicularis* (Geissmann 2003)

Ordnung: Primates

Unterordnung: Haplorrhinii

Überfamilie: Cercopithecoidea

Familie: Cercopithecidae

Unterfamilie: Cercopithecinae

Gattung: *Macaca*

Art: *Macaca fascicularis*

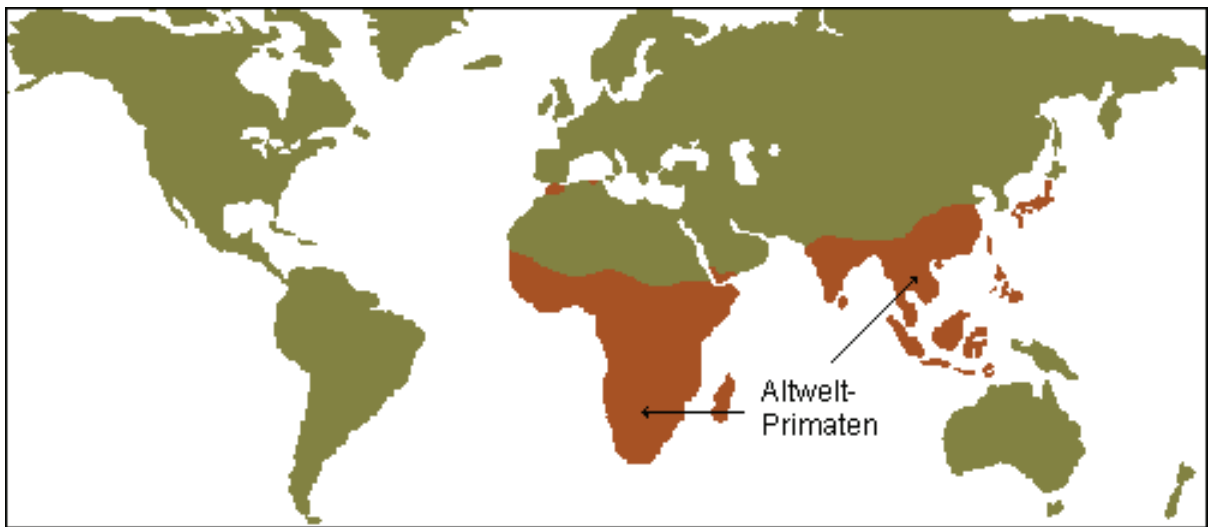


Abbildung 5: Verbreitungsgebiet der Altweltaffen, aus: [www.egbeck.de/skripten/13/bs13-37.htm](http://www.egbeck.de/skripten/13/bs13-37.htm) (modifiziert).

Die Cercopithecoidea sind über weite Teile von Afrika und Asien verbreitet (Abbildung 5). Sie bewohnen eine weitere Palette von Breitengraden, Klima- und Vegetationszonen als alle anderen Primatengruppen mit Ausnahme des Menschen (Geissmann 2003). Es gibt 19 Makakenarten, von denen einige die extremsten Lebensräume aller Primaten bewohnen (Dunbar und Barrett 2000). Der Javaneraffe (*Macaca fascicularis*) ist dabei die am weitesten südöstlich vorkommende Affenart.

Die männlichen Tiere erreichen die Geschlechtsreife mit sechs Jahren, weibliche Tiere mit ungefähr vier Jahren (Bonadio 2004). Die Makaken gelten als frugivor (Obstfresser), fressen also größere Mengen an Blättern, Blüten und anderem pflanzlichen Material aber auch Invertebraten, wie zum Beispiel Krustentiere („crab eating monkey“). Sie leben in relativ großen Mehrmännchengruppen, die bei Javaneraffen aus bis zu 20 männlichen Gruppenmitgliedern bestehen können, und sind sowohl auf Bäumen als auch am Boden

zu finden. Die gesamte Gruppengröße kann dabei durchaus 1000 Tiere umfassen (Dunbar und Barrett 2000). Diese Gruppen durchstreifen Gebiete von 40 – 100 ha. Die sozialen Beziehungen innerhalb der Gruppen sind oft komplex. Weibchen-Hierarchien und mehrere weibliche Linien (Matrilinearitäten) haben einen wichtigen Einfluss auf die Beziehung zwischen den Individuen und das Sozialverhalten der Gruppe. Werden die Gruppen zu groß, zerbricht die soziale Ordnung unweigerlich und es kommt zu einem chaotischen Durcheinander. Männchen verlassen mit Erreichen der Geschlechtsreife ihre Natalgruppe und wechseln später sehr oft die Gruppe (Geissmann 2003).

### **3       METHODEN**

#### **3.1       Weibliche Tiere**

Für die Untersuchungen an den weiblichen Tieren wurden 8 Tiere (Gruppe 1) selektiert, die sich durch einen regelmäßigen Menstruationszyklus auszeichneten. Die Gruppengröße repräsentiert die maximal zu erwartende Gruppenstärke für Fertilitätsstudien. Diese Tiere wurden in einer Gruppenstallung (Außengehege) untergebracht (8 m Länge, 2 m Breite, 2 m Höhe) und die unten (siehe 3.1.1) aufgeführten Untersuchungen durchgeführt.

Um eine Aussage darüber treffen zu können, ob mögliche Unregelmäßigkeiten im Menstruationszyklus auf den in einem Versuchsvorhaben induzierten Stress zurückzuführen sind, wurden die Tiere der Gruppen 2 und 3 zusätzlich beobachtet.

Dabei setzte sich die Gruppe 2 aus Tieren zusammen die über einen längeren Zeitraum einen Käfig teilten, die Tiere der Gruppe 3 wurden erst kurz vor dem Beginn des Versuchs in Paare zusammen gesetzt. In diesen Gruppen teilten sich jeweils zwei Tiere einen Käfig (1.2 m Länge, 1.2 m Breite, 0.9 m Höhe). Eine detaillierte Beschreibung welche Untersuchungen in den einzelnen Gruppen durchgeführt wurden ist im Folgenden beschrieben. Auf Grund eines Altersunterschiedes von bis zu drei Jahren, wurde kein Lebendmassevergleich durchgeführt.

##### **3.1.1   Gruppenhaltung [Gruppe 1]**

Mit dieser Gruppe sollte untersucht werden, ob das Ausbilden einer neuen Gruppe von gleichgeschlechtlichen Tieren den Ovulationszyklus beeinflussen kann. Zu diesem Zweck wurde ein Kollektiv weiblicher Javaneraffen über einen Zeitraum von

3 Menstruationszyklen beobachtet. Diese Aufzeichnungen wurden vorgenommen, während die Tiere unter standardisierten Laborbedingungen (12 Stunden Hell/Dunkel Rhythmus, Temperatur 19-25°Celsius und 30-70 % Luftfeuchte) und in Einzelkäfigen gehalten wurden. In dieser Umgebung hatten die Tiere Sichtkontakt zu anderen Tieren, konnten aber nicht sozial interagieren. Von diesen Tieren wurden acht ausgewählt, die sich durch einen regelmäßigen Zyklus auszeichneten (Zyklen C-3 bis C-1). Alle Tiere stammten aus unterschiedlichen Lieferungen und waren vor Studienstart in unterschiedlichen Stallungen untergebracht. Diese acht Tiere wurden zu einem Stichtag (unabhängig vom individuellen, aktuellen Zyklustag) am 8 März 2004 in eine außen befindliche Gruppenstallung gebracht, wo keine standardisierten Laborbedingungen mehr herrschten, die Tiere aber trotzdem noch weiterhin einzeln gehalten werden konnten. Unter diesen Bedingungen wurde der Zyklus weiter beobachtet, bis der erste Zyklus vollendet war und mit dem ersten Tag des Zyklus 2 (C2) in das angrenzende Freigehege verbracht. Hier wurden die Tiere weiterhin gehalten, bis das letzte Tier innerhalb der Gruppe den zwölften Zyklus vollendet hatte (C2 bis C12).

Die Tiere wurden einmal in der Woche gewogen und der Menstruationszyklus mittels täglicher Vaginalabstriche (vergleiche 3.4) überwacht. Außerdem wurde den Tieren während des Zyklus 1 (Einzelhaltung), 3, 5, 7, 9 und 11 (Gruppenhaltung) Blut an den Tagen 1, 4, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 20, 22, 24 und 27 des jeweiligen Zyklus zur Hormonbestimmung entnommen. Der soziale Rang der Tiere wurde mittels „Food Challenge Test“ (vergleiche 3.3) ermittelt.

Die Tiere wogen zum Versuchsbeginn zwischen 3.1 kg und 3.7 kg und waren zwischen vier und sieben Jahre alt. Die Tiernummern, die Geburtsdaten und die Gruppenzugehörigkeit sind in der Tabelle 2 dargestellt.

### **3.1.2 Langzeitpaarhaltung [Gruppe 2]**

Mit den Tieren der Gruppe 2 sollte untersucht werden, ob es initial zu Verschiebungen im Ovulationszyklus kommen kann. Dazu wurden die Zyklen von 6 Tieren, die schon ein Jahr lang in Paaren zusammengelebt hatten und für ein Versuchsvorhaben selektiert worden waren, über einen Zeitraum von 13 Wochen nach dem Studienstart kontrolliert. Diese Tiere gingen zusammen mit dem jeweiligen Partner in das Versuchsvorhaben. Sie teilten den Käfig mit dem Partner von April/Mai 2004 an, das Versuchsvorhaben (Tag 1 der Dosierung) startete am 23 März 2005. Die Tiere wurden entsprechend einer standard-

toxikologischen Prüfung gehalten, und tägliche Routineuntersuchungen ausgesetzt. Es wurden Blutentnahmen in regelmäßigen Abständen durchgeführt, EKG's aufgezeichnet, Augenuntersuchungen und Blutentnahmen zur Plasmaspiegelbestimmung durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen werden in dieser Arbeit nicht berücksichtigt, sollen aber erwähnt werden um zu zeigen, dass die Tiere den selben Bedingungen ausgesetzt waren, wie in allen anderen Studien auch; das Stressniveau war also vergleichbar. Die Tiernummern und Geburtsdaten sind in der Tabelle 2 dargestellt.

### **3.1.3 Paarhaltung [Gruppe 3]**

Anhand dieser Tiere wurde untersucht, ob es nach der Bildung neuer, gleichgeschlechtlicher Paare zu Änderungen im Ovulationszyklus kommt. Vier Tiere, die sich durch einen regelmäßigen Zyklus auszeichneten, wurden ausgesucht und wenige Wochen vor dem Versuchsvorhaben mit einem bis dahin unbekannten, gleichgeschlechtlichen Partner in einem Käfig zusammengesetzt. Die Zyklen dieser Tiere wurden über einen Zeitraum von vier Monaten überwacht, bevor sie mit dem neuen Partner zusammengesetzt wurden (15 April 2005). Das Versuchsvorhaben wurde am 24 Mai 2005 gestartet und die Tiere im Folgenden über einen Zeitraum von weiteren 39 Wochen vor allen Dingen in Bezug auf den Menstruationszyklus überwacht. Auch diese Tiere wurden im Rahmen der toxikologischen Prüfung täglich dosiert, wobei die hier ausgewerteten Tiere lediglich mit Vehikel appliziert wurden. Außerdem wurde den Tieren Blut entnommen, Augenuntersuchungen und Elektrokardiogramme wurden ebenfalls durchgeführt und die Plasmaspiegel im Blut bestimmt.

Diese Untersuchungsergebnisse sind für diese Arbeit nicht von Bedeutung und werden aus diesem Grund an dieser Stelle nicht berücksichtigt, sollen aber erwähnt werden um zu zeigen, dass die Tiere den selben Bedingungen ausgesetzt waren, wie in allen anderen Studien auch; das Stressniveau war also vergleichbar. Die Tiernummern und Geburtsdaten sind in der Tabelle 2 dargestellt.

## **3.2 Männliche Tiere**

Für die Gruppe 1 wurden 7 männliche Tiere selektiert, die in einer Gruppenstallung (Außengehege) untergebracht (8 m Länge, 2 m Breite, 2 m Höhe) wurden, wo die unten aufgeführten Untersuchungen (vergleiche 3.2.1) durchgeführt wurden. Diese Gruppe wurde dann später in Untergruppen (1a und 1b) aufgeteilt, wobei die ranghohen (1a) und



die rangniedrigen (1b) Tiere jeweils eine Gruppe darstellten. Hier galt es die Frage zu beantworten, ob der soziale Rang einen Einfluss auf mögliche Veränderungen in den Fertilitätsparametern darstellt. Zu diesem Zweck wurde der ursprüngliche Käfig in zwei Teile unterteilt und eine Sichtbarriere errichtet. Ferner wurden 3 weitere Gruppen (2, 3 und 4) – die sich aus 8 bis 10 Tieren zusammen setzten – beobachtet. Diese Tiere waren in runden Gruppenstallungen (Durchmesser 3.8 m, Höhe 2.35 m) untergebracht. Auch aus diesen Gruppen wurden Tiere nach Abschluss aller Untersuchungen in der Form neu zusammengesetzt, dass jeweils ranghohe (2a und 2b) und rangniedrige (2c) Tiere eine Gruppe bilden. Diese Untergruppen waren in Käfigen (Breite 1.42 m, Tiefe 1.59 m, Höhe 2.31 m) und standardisierten Laborbedingungen untergebracht. Auf Grund der Altersdifferenz (bis zu 7 Monate) wurde auf einen Lebendmassevergleich verzichtet.

### **3.2.1 Gruppenhaltung [Gruppe 1]**

Die Untersuchungen an diesen Tieren sollten zeigen, ob die Ausbildung einer gleichgeschlechtlichen Gruppe Auswirkungen auf Fertilitätsparameter nehmen kann. Es wurden sieben geschlechtsreife, männliche Javaneraffen selektiert und aus einer standardisierten Einzelhaltung in eine Freiland Gruppenstallung verbracht (10 März 2004, Baseline). Die Tiere zeichneten sich alle durch eine positive Ejakulatprobe aus, in der eine ausreichende Menge beweglicher Spermien gezählt wurde. Diese Gruppe wurde komplett neu konfiguriert, wobei alle Tiere aus unterschiedlichen Lieferungen stammten und vorher immer in unterschiedlichen Stallungen untergebracht waren.

Es wurden die Hodenvolumina, Körpergewichte und Hormonwerte (Testosteron, FSH und Inhibin B) bestimmt und die Ejakulate (Spermienzahl und Spermienmotilität) in regelmäßigen Abständen (Baseline, Woche 3, 6, 9, 11, 13, 17, 21 und 26) untersucht. Außerdem wurde der soziale Rang der einzelnen Tiere innerhalb der Gruppen mittels „Food Challenge Test“ evaluiert. Die Tiernummern und Geburtsdaten sind in der Tabelle 2 dargestellt.



### **3.2.2 Dreiergruppen [Untergruppen 1a und 1b]**

Nach Ablauf der ersten 26 Wochen wurden die männlichen Tiere der Gruppe 1 in zwei Untergruppen (1a und 1b) aufgeteilt und zwar in der Form, dass die jeweils hochrangigen Tiere (1a) und die Tiere mit niedrigem sozialen Rang (1b) eine Gruppe bildeten. Innerhalb dieser Gruppenkonstellation wurden bei den Tieren die Hodenvolumina, Körpergewichte und die Hormone bestimmt (Basal, Woche 3, 6, 9, 11, 13, 17, 21 und 26). Mittels Food-Challenge Test wurde der individuelle Rang bestimmt. Die Details zu den Tieren sind in Tabelle 2 dargestellt.

### **3.2.3 Gruppenhaltung [Gruppen 2, 3 und 4]**

Drei weitere Gruppen mit acht bis zehn männlichen, geschlechtsreifen Tieren wurden aus einer standardisierten Einzelhaltung in eine Freiland Gruppenhaltung verbracht (24 Mai 2004). Innerhalb dieser Gruppen stammten die Tiere alle aus der gleichen Lieferung und waren vor dem Versuchsbeginn teilweise in den gleichen Stallungen untergebracht. Von diesen Tieren wurden die Hodenvolumina und die Körpergewichte bestimmt und Hormonbestimmungen durchgeführt (Woche 3, 6, 9, 11 und 13). Des Weiteren wurde auch bei diesen Tieren ein „Food Challenge Test“ durchgeführt, um den individuellen Rang zu bestimmen. Die Tiernummern und Geburtsdaten sind in Tabelle 2 dargestellt.

### **3.2.4 Dreiergruppen [Untergruppen 2a, 2b und 2c]**

Aus den Gruppen 2 bis 4 wurden nun erneut Tiere selektiert und in 3 neue Dreiergruppen verbracht. Diese Gruppen setzten sich so zusammen, dass ranghohe Tiere aus allen Gruppen eine Gruppe bildeten (Gruppen 2a und 2b) und eine Gruppe mit rangniedrigen Tieren (Gruppe 2c) eine Gruppe bildete. Diese Tiere wurden unter standardisierten Laborbedingungen gehalten. Die Tiernummern und Geburtsdaten sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Tiernummern, Geburtsdaten und die Gruppeneinteilung aller für die Studie selektierten Tiere aus den Gruppen 1, 2, 3 und 4 und den entsprechenden Untergruppen (1a und b und 2a bis 2c).

Weibliche Tiere				Männliche Tiere	
Gruppe	Tattoo Nummer	Geburts- datum	(Unter) Gruppe	Tattoo Nummer	Geburts- datum
1	20121 F	01 Januar 1997	1	21516 M	02 September 1999
	20278 F	28 März 1997		21813 M	27 September 1999
	20332 F	05 Juni 1997		21830 M	10 Februar 2000
	21090 F	29 Juni 1998		21914 M	07 Dezember 1999
	21129 F	22 Februar 1999		21927 M	23 September 1999
	21132 F	12 September 1999		22107 M	04 Oktober 2000
	21386 F	18 Januar 2000		21852 M	24 Januar 2000
	21584 F	07 März 2000			
2	22244 F	10 Mai 2000	(1a)	21516 M	02 September 1999
	22267 F	22 Juni 2000		21813 M	27 September 1999
	22251 F	19 Mai 2000		21830 M	10 Februar 2000
	22263 F	03 Juni 2000		21852 M	24 Januar 2000
	22242 F	09 Mai 2000			
	22257 F	26 Mai 2000			
3	22026 F	22 Dezember 1999	(1b)	21914 M	07 Dezember 1999
	21171 F	25 August 1999		21927 M	23 September 1999
	22120 F	04 Februar 2000		22107 M	04 Oktober 2000
	22035 F	17 November 1999			
Männliche Tiere				Männliche Tiere	
2	22191 M	02 Juli 1999	(2a)	22226	27 August 1999
	22192 M	03 Juli 1999		22189	01 Juli 1999
	22196 M	08 Juli 1999		22205	19 Juli 1999
	22202 M	17 Juli 1999			
	22203 M	18 Juli 1999			
	22206 M	19 Juli 1999			
	22213 M	26 Juli 1999			
	22215 M	27 Juli 1999			
	22223 M	15 August 1999			
	22226 M	27 August 1999			
3	22200 M	12 Juli 1999	(2b)	22223	15 August 1999
	22204 M	19 Juli 1999		22198	09 Juli 1999
	22205 M	19 Juli 1999		22221	13 August 1999
	22209 M	24 Juli 1999			
	22210 M	25 Juli 1999			
	22218 M	09 August 1999			
	22219 M	09 August 1999			
	22221 M	13 August 1999			
	22224 M	16 August 1999			
	22228 M	31 August 1999			
4	22189 M	01 Juli 1999	(2c)	22217	05 August 1999
	22194 M	05 Juli 1999		22219	09 August 1999
	22198 M	09 Juli 1999		22215	27 Juli 1999
	22201 M	13 Juli 1999			
	22211 M	26 Juli 1999			
	22214 M	26 Juli 1999			
	22217 M	05 August 1999			
	22225 M	21 August 1999			

### **3.3 Food Challenge Test**

Dieser Test ist ein gebräuchliches Mittel der Verhaltensbiologie, um den sozialen Rang einzelner Tiere innerhalb einer Gruppe zu bestimmen (Rilling et al. 2004). Dazu wird den Tieren einmalig ein bevorzugtes Futtermittel (Obst, Gemüse, Schokolade) angeboten und aufgezeichnet, welches der Tiere das Angebot zuerst wahrnimmt. Dieses Tier kann als das ranghöchste Tier (Alpha-Tier) bezeichnet werden, da bekannt ist, dass der Status der einzelnen Tiere innerhalb einer Gruppe mit dem Verhalten korrelieren (Kaplan et al. 1991). Über Beobachtungen, welche Tiere das Alpha-Tier neben sich zulässt, kann man die Rangordnung immer weiter bestimmen, wobei die Bestimmung mit jedem Rang ungenauer wird. Diese Untersuchungen wurden an dem Tag, als die Tiere zusammengesetzt wurden, und später in unregelmäßigen Abständen durchgeführt.

### **3.4 Vaginal Abstriche**

Vaginalabstriche wurden bei allen weiblichen Tieren auf Tagesbasis durchgeführt. Dazu wurde den Tieren ein Wattestäbchen in die Vagina eingeführt und die Rotfärbung beurteilt (Korte et al. 1987). Dabei diente eine Skala von 0 (keine Blutung) bis 4 (starke Blutung) zur Beurteilung der Menstruationsblutung. Alle Tiere der Gruppe 1 wurden über die Dauer von 3 Zyklen [C-1 bis C-3] und danach über weitere 12 Zyklen [C1 bis C12] beobachtet. Nur Tiere mit regelmäßigem Menstruationszyklus wurden in die Studie aufgenommen.

### **3.5 Hodenmessung**

Für die Hodenmessungen wurden die Tiere sediert und die Länge und die Weite des linken und rechten Hodens mit Hilfe einer Schieblehre gemessen. Dazu wurden die Tiere auf den Rücken gelegt und der Hoden mit zwei Fingern umfasst. Zur Abmessung wurde dann die Schieblehre an den Hoden angelegt und ein leichter Druck ausgeübt, bis die Schieblehre dem Hoden beidseitig fest anlag. Die ermittelten Werte wurden an der Schieblehre abgelesen und mit Hilfe der unten aufgeführten Formel berechnet. Während der Messungen sollte der ausgeübte Druck immer in etwa der gleiche sein, weshalb sämtliche Messungen von einer Person durchgeführt wurden.

Über die folgende Formel zur Volumenberechnung elliptischer Körper wurde das Hodenvolumen berechnet (Marschall et al. 1983):

$$V = [(w^2 \times l) / 6] \times 3,141592654 = \text{Hodenvolumen in mL}$$

Dabei ist „w,, die Weite und „l,, die Länge des gemessenen Hodens.

### **3.6 Elektroejakulation/Ejakulatgewinnung**

Die zur Beurteilung der Spermienmenge und -motilität notwendigen Ejakulate wurden bei allen Tieren unter Ketaminnarkose (Ketamin HCl: 10 mg/kg/KGW) mittels Elektroejakulation gewonnen. Dabei wird die Prostata der Tiere mit einer Zweipol Sonde und leichten Strömen (6 Volt bei 50 Herz bis 9 Volt bei 60 Herz) stimuliert bis es zu einer Ejakulation kommt (Aslam et al. 2002). Die Stimulationszeit beträgt dabei maximal 3 Sekunden und sollte 15 Sekunden Abstände nicht unterschreiten. Die so gewonnen Proben werden in Ejakulatgefäßen aufgefangen und entsprechend gewogen. Das Koagulum wird mit 2 %iger Trypsin-Ringer Lösung bedeckt und mindestens 60 Minuten im Wasserbad inkubiert. Es wurde zuerst die Spermienzählung durchgeführt und dann die Spermienmotilität im Mikroskop bestimmt. Dazu werden aus Exsudat und Koagulum jeweils Verdünnungen mit Gentianaviolettgebrauchslösung hergestellt. Für die Festlegung des Verdünnungsfaktors werden je ca. 20 µL von Exsudat oder enzymatisch zersetztem Koagulum entnommen und auf einen auf einer Wärmeplatte vorgewärmten Objektträger pipettiert. Die Betrachtung erfolgt unter dem Mikroskop durch ein Objektiv mit 40facher Vergrößerung. Dieses Präparat vom Exsudat dient gleichzeitig auch der Bestimmung der Motilität.

### **3.7 Hormonbestimmungen**

Die Hormonspiegel wurden im Serum untersucht, das über einen Zeitraum von mehreren Wochen tiefgekühlt gelagert wurde. Das Blut wurde den jeweiligen Tieren zu allen Untersuchungszeitpunkten in den Morgenstunden (7 bis 8 Uhr) entnommen. Die Nachweisgrenzen der einzelnen Assays sind wie folgt:

Testosteron:	0.17 nmol/L
FSH:	0.134 ng/mL
Östradiol:	7.34 pmol/L
Inhibin-B:	< 15 pg/mL
Progesteron:	0.06 nmol/L

Im Folgenden ist das Messprinzip eines jeden Assay näher beschrieben.

### **3.7.1 Testosteron**

Testosteron (17 $\beta$ -Hydroxy-4-androsten-3-on), ein C 19-Steroid, ist ein hochwirksames zirkulierendes, natürlich vorkommendes Androgen, das vorwiegend in den Hoden ausgeschüttet wird und sich nur in geringen Anteilen aus der peripheren Umwandlung von 4- Androsten-3,17-dion (ASD) ableitet. Ungefähr 60 % des im Blut zirkulierenden Testosterons ist normalerweise mit hoher Affinität an Sexualhormon-bindendes Globulin (SHBG) gebunden. Der Rest ist bis auf 1 - 2 % lose an Albumin gebunden. Sowohl die ungebundenen als auch die an Albumin gebundenen Anteile können biologisch wirksam sein, wohingegen SHBG die Testosteron-Wirkung unterdrückt. Ungefähr die Hälfte des im Blutkreislauf vorkommenden Testosterons wird in der Leber zu Androsteron, Etiocholanolon und Epiandrosteron metabolisiert, die alle relativ schwache androgene Wirkung haben. In bestimmten Zielgeweben wird Testosteron auch in das hochwirksame Androgen Dihydrotestosteron (DHT) umgewandelt (vergleiche 2.4).

Dem Verfahren liegt das Grundprinzip eines kompetitiven Radioimmunoassays zugrunde, wobei radioaktive und nicht radioaktive Antigene um eine konstante Anzahl von Antikörper-Bindungsstellen konkurrieren. Die an den Antikörper gebundene Menge des markierten Testosterons [1-125] ist umgekehrt proportional zu der Konzentration des vorhandenen unmarkierten Testosterons. Eine Trennung des freien und gebundenen Antigens erfolgt mittels eines Doppel-Antikörper-Systems. Die Bestimmung wurde mit dem folgenden Testkit durchgeführt: DSL Testosteron-RIA-Kit (DSL-4100), Diagnostic Systems Laboratories Deutschland GmbH, Kleines Feldlein 4, D-74889 Sinsheim, Nachweisgrenze: 0.17 nmol/L.

### **3.7.2 Follikel-stimulierendes Hormon (FSH)**

FSH ist gemeinsam mit LH und Prolactin ein Gonadotropin aus dem Hypophysenvorderlappen. Seine Synthese und Sekretion werden durch die GnRH-Ausschüttung des Hypothalamus kontrolliert. Es trägt bei der Frau zum Follikelwachstum [Eizellenwachstum im Eierstock (Ovar) und der Follikelreifung (Eizellenreifung)] bei, beim Mann beeinflusst das FSH die Spermienreifung (vergleiche Kapitel 2.4). Die Bestimmung erfolgte mittels Radioimmunassays wozu ein kombinierter Testkit verwendet wurde.

Dieser setzte sich aus den folgenden Komponenten zusammen: Tracer, Perkin Elmer Life Science; 1AK Beckman Coulter Immunotech Diagnostics; 2AK ICN Biomedicals GmbH, Nachweisgrenze: 0.5 – 1 ng/mL.

### **3.7.3 Östradiol (17 $\beta$ -Estradiol)**

Östrogene sind weibliche Hormone, die hauptsächlich im Eierstock, aber auch - in geringerem Ausmaß - im Fettgewebe und in der Nebenniere gebildet werden. Der Eierstock produziert eine Reihe von Estrogenen, unter denen 17 $\beta$ -Estradiol das wichtigste Hormon darstellt.

17 $\beta$ -Estradiol sorgt im natürlichen weiblichen Zyklus für das Heranreifen meist eines Eies, das durch den Eisprung freigesetzt wird und dann befruchtet werden kann. Zugleich bewirken sie eine vermehrte Zellteilung und damit ein Wachstum der Gebärmutterschleimhaut. Das geschieht in erster Instanz durch eine Hemmung der LH Sekretion (negatives Feedback), gefolgt von einer Steigerung der LH-Ausschüttung (positives Feedback), die zum Ovulation auslösenden Peak führt (vergleiche Kapitel 2.4). Die Methode zur Bestimmung ist ein kompetitiver Radioimmunoassay. Dabei werden die Proben und Kalibratoren mit 125J-markiertem Östradiol und einem Antikörper inkubiert. Die Bestimmung wurde mit dem folgenden Testkit durchgeführt: Estradiol 2 Clinical Assays, Radioimmunoassay ; DAB; Sorin Biomedica Diagnostics, Heltorferstr.12, D - 40472 Düsseldorf.

### **3.7.4 Inhibin-B**

Inhibin B ist ein Mitglied der Gruppe der Transforming-Growth-Faktor-B Superfamilie. Für zwei Inhibine wurden Immunoassays entwickelt: für Inhibin A, aus zwei alpha Untereinheiten bestehend, und für Inhibin B, das aus einer alpha und einer beta Untereinheit besteht. Bei Frauen wird das Inhibin-B überwiegend im Ovar, beim Mann überwiegend in den Sertolizellen des Hodens gebildet. Es stellt beim Mann, ähnlich wie bei der Frau, das negative Rückkopplungssignal aus dem Hoden (Sertolizellen) für die Sekretion von FSH dar (vergleiche Kapitel 2.4). Die Inhibin-B Konzentration im Serum korreliert sehr gut mit der Spermatogenese, dem Hodenvolumen und der Spermienzahl, wodurch Schädigungen des keimbildenden Epithels durch die Bestimmung des Inhibin-B Spiegels gut erkannt werden können.

Die Inhibin-B Konzentrationen wurden mittels Sandwich ELISA Assay (ELISA Kit MCA 1312 KZZ, Diagnostic Systems Laboratories Deutschland GmbH, Kleines Feldlein 4, D-74889 Sinsheim) ermittelt; Nachweisgrenze: < 15 pg/mL.

### **3.7.5 Progesteron**

Progesteron ist wie Östrogen ein weibliches Geschlechtshormon. Progesteron wird vorwiegend im Gelbkörper (Corpus luteum) und im Mutterkuchen (Plazenta) gebildet. Bei Erwachsenen beiderlei Geschlechts werden nur geringe Progesteronmengen in der Nebennierenrinde produziert. Der Progesteronspiegel im Blut ist abhängig von der Zyklusphase und hat dementsprechend enorme Schwankungen mit Spitzenwerten in der zweiten Zyklushälfte. Es bereitet die Gebärmutter auf eine mögliche Schwangerschaft vor und sorgt für ihren Fortbestand, wenn diese Eintritt. Es bereitet außerdem die Brustdrüse auf die Milchproduktion und -abgabe vor (vergleiche Kapitel 2.4). Das Progesteron wurde mittels eines kompetitiven Radioimmunoassays bestimmt (TKPG Coat-A-Count Progesteron - RIA - Kit, DPC Biermann GmbH Hohe Strasse 4-8, 61231 Bad Nauheim).

## **3.8 Klinische Chemie**

Um eine Aussage zu möglichen Änderungen der Leber oder Nierenwerten treffen zu können, wurde den männlichen Tieren der Gruppe 1 in regelmäßigen Abständen [vor Gruppenbildung (basal), in Woche 6, 13 und 26 nach Gruppenformation] Blut entnommen. Außerdem wurde den Tieren aus den Gruppen 1a und 1b im vergleichbaren Rhythmus Blutproben entnommen und auf die beschriebenen Parameter hin untersucht (vergleiche Tabelle 3). Die Auswertung erfolgte nach der Probenentnahme und direkt anschließender Zentrifugation im Serum mittels eines vollautomatischen Analysesystems (Konelab Analyzer: Kl 60i, Serial No.: P 4018922 Lieferant: Thermo Electron Corporation, Im Steingrund 4-6, 63303 Dreieich, Germany). Die folgenden Parameter wurden bestimmt (Tabelle 3):

Tabelle 3: Aufstellung der im Rahmen der Klinischen Chemie bestimmten Parameter.

Parameter	Abkürzung	Einheit
Gesamt Bilirubin	TBIL	µmol/L
Kreatinin	CREA	µmol/L
Harnstoff	BU	mmol/L
Glutamat-Laktat-Dehydrogenase	GLDH	U/L
Aspartat-Aminotransferase	AST	U/L
Alanin-Aminotransferase	ALT	U/L
Alkalische Phosphatase	ALP	U/L
Gamma-Glutamyl-Transferase	GGT	U/L
Glukose	GLUC	mmol/L
Gesamtes Cholesterin	CHOL	mmol/L
Triglyceride	TRIG	mmol/L
Phosphat	PHOS	mmol/L
Kalzium	CA	mmol/L
Natrium	NA	mmol/L
Kalium	K	mmol/L
Chlor	CL	mmol/L
Gesamtes Eiweiß	TP	g/L
Albumin	ALB	g/L



### 3.9 Statistische Datenanalyse

Die folgenden Daten für die Tiere der Gruppe 1 wurden entsprechend dem unten beschriebenen Prozedere statistisch ausgewertet (Sachs 1984). Dabei wurden die Werte innerhalb der Gruppe gegen den jeweiligen Basalwert verglichen. Für die männlichen Tiere: Körpergewicht, Hodenvolumen, FSH, Inhibin-B und Testosteron, und bei den weiblichen Tieren das Progesteron und Östradiol.

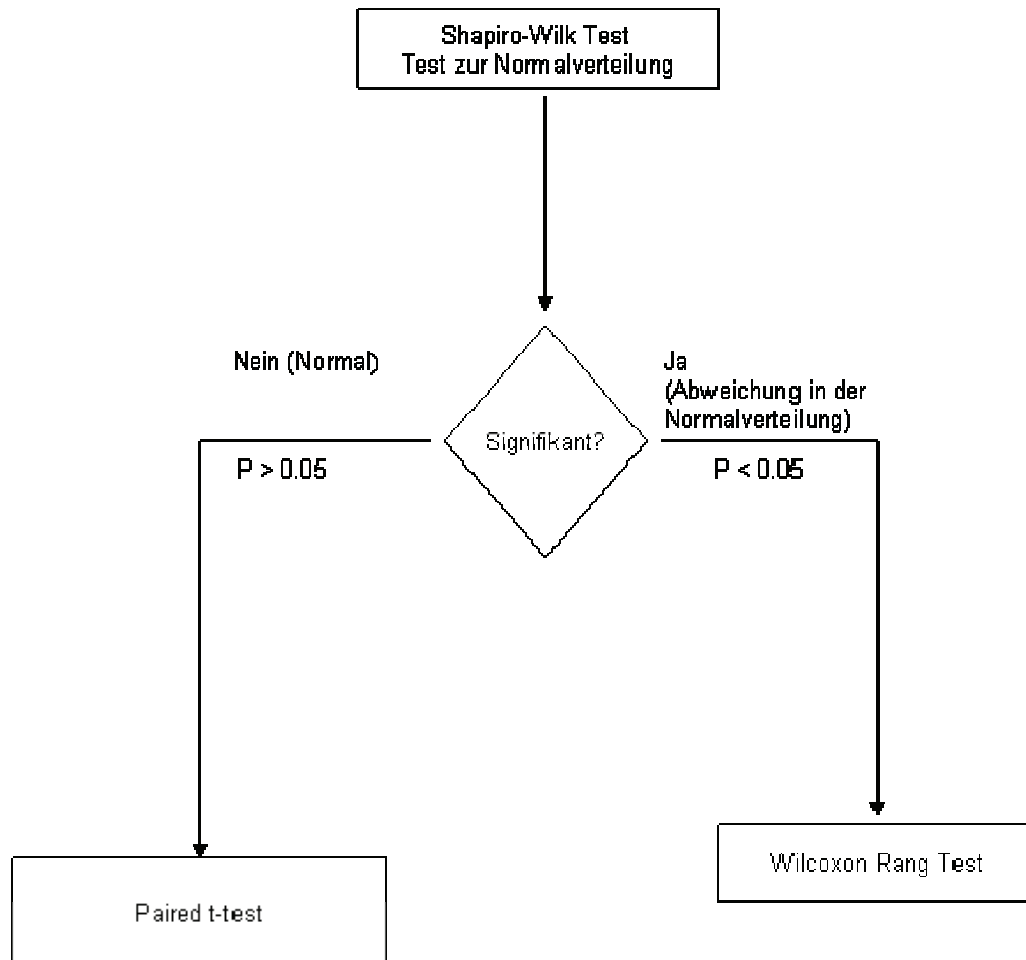


Abbildung 6: Ablauf des statistischen Prozedere mit Shapiro Wilk, Paired t-Test und Wilcoxon Rank Test. Bei einer 95 %igen Wahrscheinlichkeit zur Normalverteilung wurde der paired t-Test angewandt.

## 4 ERGEBNISSE

### 4.1 Allgemeine Befunde (Rangordnung/Gruppenhierarchie)

Die Rangordnung der einzelnen Tiere wurde mittels „Food Challenge Test“ bestimmt. Bemerkenswert war hierbei, dass die Rangordnung innerhalb der Gruppe weiblicher Tiere schwierig zu bestimmen war. Hier konnte lediglich ein hochrangiges (alpha) und ein sicher untergeordnetes Tier eindeutig klassifiziert werden. Alle anderen Tiere konnten keiner Stellung zugeordnet werden. Bei den männlichen Tieren wurden 2 hochrangige (alpha und beta) und 3 untergeordnete Tiere sicher klassifiziert. Die Rangordnung in der Gruppe männlicher Tiere war über den gesamten Beobachtungszeitraum stabil, wohingegen es bei den weiblichen Tieren immer wieder zu kleineren Rankämpfen kam. Ein Beweis dafür wird in der Tabelle 4 gezeigt. Diese zeigt einen Inzidenzfaktor, der sich aus der Anzahl der veterinärmedizinisch notwendigen Intervention (Versorgung kleinerer Verletzungen) und dem Verhältnis zur Gesamttierzahl errechnet. So konnte für die männlichen Tiere ein Faktor von 0.45 kalkuliert werden ( $3/7=0.45$ ). Für die weiblichen Tiere lag dieser Faktor bei 0.88 ( $7/8=0.88$ ). Hier musste fast jedes Tier wenigstens einmal behandelt werden und auch zu sehr viel späteren Zeitpunkten (Tag 278, 283, 346 und 352) der Beobachtungsphase. Bei den männlichen Tieren waren lediglich drei Tiere betroffen, die letzte Behandlung erfolgte am Tag 225 (Tabelle 4).

Tabelle 4: Aufstellung der erfolgten veterinärmedizinischen Intervention (Bisswunden) bei männlichen und weiblichen Tieren der Gruppe 1. Dabei werden die jeweilig betroffenen Tiere dem Behandlungstag gegenübergestellt.

Tiernummer	Rangordnung	Tag	Inzidenzen	Faktor
Männliche Tiere				
21813	-	43, 126, 225	3	<b>3/7</b> <b>=</b> <b>0.45</b>
21914	-	169	1	
21516	1	94	1	
21852	2	-	-	
22107	7	-	-	
21914	5	-	-	
21927	6	-	-	
Weibliche Tiere				
20278	1	27, 120	2	<b>7/8</b> <b>=</b> <b>0.88</b>
21386	-	18	1	
21129	-	33, 283	2	
21090	-	115, 278	2	
20332	-	125	1	
21584	-	-	-	
21132	8	153, 346	2	
20121	-	352	1	

#### 4.2 Korrelation (Rangordnung - Individualwerte)

In der Abbildung 7 wird deutlich, dass die Rangordnung eindeutig mit dem Körpergewicht korreliert, für das Hodenvolumen gilt das auch bis auf das Tier 22107; das Tier zeigt basal ein deutlich höheres Volumen im Vergleich zu den anderen Tieren niederen Ranges. Das Alpha Tier (21516), mit einem Hodenvolumen von 25.5 mL und einem Körpergewicht von 6.2 kg, dominiert die Gruppe. Grundsätzlich gilt, je größer der Parameter x oder y (z. B. das Körpergewicht oder das Hodenvolumen) desto höher der soziale Rang. Eine Korrelation mit der Spermienanzahl und der Spermienmotilität sowie mit den Hormonwerten (Testosteron, Inhibin-B und FSH) konnte nicht nachgewiesen werden.

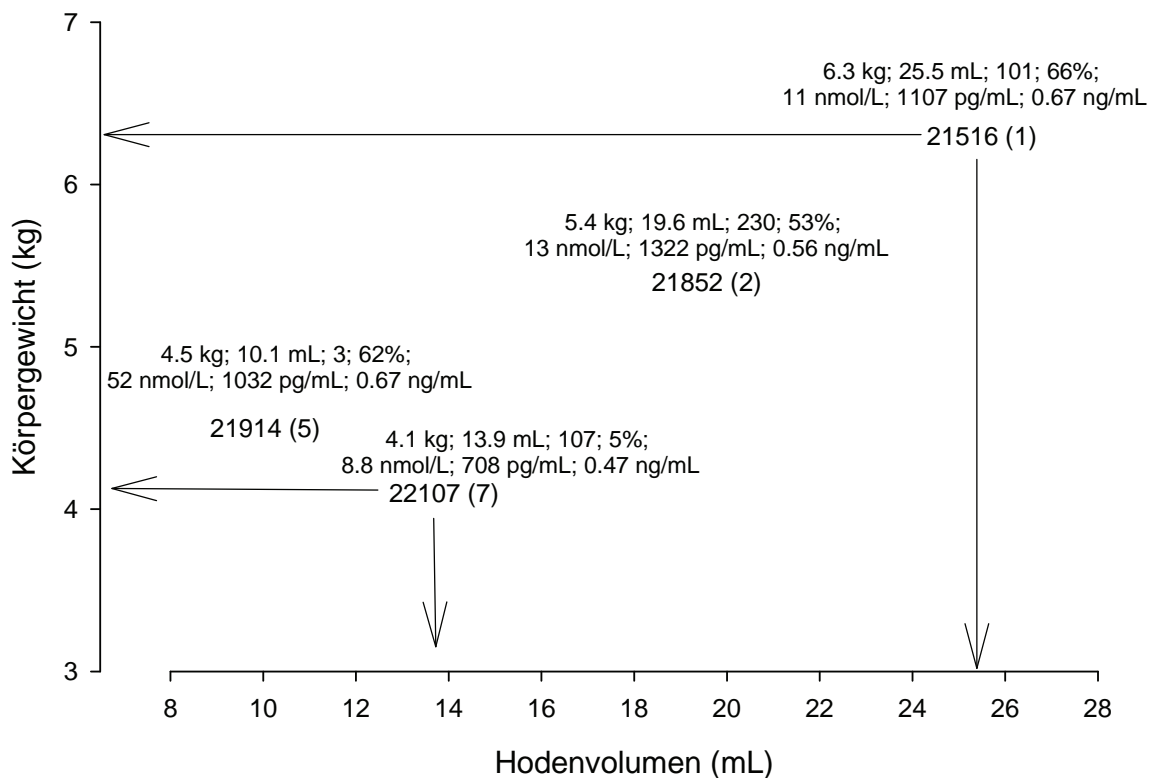


Abbildung 7: Gezeigt sind die Individualwerte aller Tiere der Gruppe 1, deren Rang eindeutig identifiziert werden konnte. Die x-Achse zeigt das Hodenvolumen, die y-Achse das Körpergewicht, über den Tiernummern sind die Werte von links nach rechts für Körpergewicht, Hodenvolumen, Spermienzahl, Spermienmotilität, Testosteron, Inhibin B und FSH aufgetragen. Die Zahl in Klammern gibt Auskunft über den Rang innerhalb der Gruppe.

### **4.3 Klinische Chemie**

Zur Beurteilung der Daten aus den Serumuntersuchungen dienten Referenzdaten von 120 Javaneraffen. Diese Referenzdaten werden in dieser Arbeit nicht separat aufgeführt, sondern sind in die Tabelle 5 eingearbeitet. Eventuelle Auswirkungen der Gruppenhaltung auf Elektrolyte, Leber und Nierenparameter wurden anhand der männlichen Tieren der Gruppe 1 und den Untergruppen 1a und 1b über jeweils 26 Wochen untersucht. Obwohl sich die Messwerte einzelner Parametern außerhalb des Normalwertbereichs bewegen, ist kein systemischer Effekt innerhalb der Gruppen zu erkennen.

Die Bilirubinwerte (TBIL) bei den Tieren der Gruppe 1 zeigten sich anfangs deutlich erhöht, waren im weiteren Verlauf der Studie aber wieder rückläufig und erreichten nach Ablauf der sechsundzwanzigwöchigen Beobachtungsphase wieder nahezu die Normalwerte. Die Aspartat-Aminotransferase (AST) stieg hingegen im Verlauf deutlich an. Die Alanin-amino-Transferase (ALT) wie auch die Alkalische-Phosphatase (ALP) lagen schon zu Beginn der Beobachtung deutlich unter den Normalwerten. Die Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) zeigte sich initial auch erhöht, ging über den Verlauf aber wieder deutlich zurück und erreichte nach 26 Wochen annähernd die Normalwerte. Bei allen anderen Parametern gab es keinerlei Auffälligkeiten.

Für die Tiere der Gruppe 1a konnte ein leichter Anstieg in der Glutamat-Laktat-Dehydrogenase (GLDH) ermittelt werden, wobei die Werte immer innerhalb der Normalwerte lagen. Für die Aspartat-Aminotransferase (AST) wurde initial ein deutlicher Anstieg gemessen, wobei sich die Alanin-amino-Transferase (ALT) stabil darstellte. Wie in der Gruppe 1 sind auch hier die Werte der Alkalischen Phosphatase (ALP) deutlich unterhalb der Referenzdaten und auch die Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) zeigte sich im Mittel bei den Tieren erhöht. Ansonsten konnte auch hier bei allen anderen Werten keinerlei Auffälligkeiten festgestellt werden.

Bei den Tieren der Gruppe 1b wurde ein leichter Anstieg in der Glutamat-Laktat-Dehydrogenase (GLDH) und auch bei der Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) gemessen, der bis zum Ende der Beobachtungsphase anhielt. Wie in der Gruppe 1 und 1a, war die Alkalischen Phosphatase (ALP) auch hier etwas niedriger im Vergleich zu den Normalwerten, im Vergleich zu den Gruppen 1 und 1a in der Ausprägung aber deutlich schwächer.

Alle anderen Parameter zeigten keinerlei Auffälligkeiten. Eine detaillierte Aufstellung der ermittelten Werte kann der Tabelle 5 und der Abbildung 8a/b entnommen werden. Auf die graphische Darstellung der Elektrolyte wurde an dieser Stelle verzichtet, da es hier zu keinerlei Effekten kam.

Zusammenfassend kann man sagen, dass sowohl die Gruppengröße, wie auch generell die Neuformierung einer Gruppe keinen Einfluss auf die untersuchten Standardparameter der Klinischen Chemie bei männlichen Javaneraffen hat. Die wenigen gemessenen Abweichungen von den Referenzwerten liegen alle innerhalb der erlaubten Variationen und spiegeln keine signifikante Änderung im Stoffwechsel wieder.

Tabelle 5: Zusammenfassung der untersuchten Parameter der Klinischen Chemie für die Gruppen 1, 1a und 1b über jeweils 26 Wochen. Die erste Spalte zeigt die Referenzwerte (n= 51-120) eines jeden Parameters.

Parameter		Referenz Werte	Basal			Woche 6			Woche 13			Woche 26		
			Gr 1	Gr 1a	Gr 1b	Gr 1	Gr 1a	Gr 1b	Gr 1	Gr 1a	Gr 1b	Gr 1	Gr 1a	Gr 1b
TBIL µmol/L	MW	3,33	11,05	5,58	5,15	5,62	6,18	6,79	4,10	4,96	5,10	4,48	4,10	3,55
	SD	1,59	8,02	2,58	1,98	2,11	2,80	4,09	1,40	1,04	0,25	1,50	0,64	0,78
	N	120	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3
CREA µmol/L	MW	85,93	85,33	89,50	78,61	86,39	95,42	86,09	92,66	86,33	85,99	86,88	87,61	92,76
	SD	14,59	7,20	7,36	7,69	11,62	13,97	11,13	10,90	9,51	4,62	7,99	7,78	4,45
	N	116	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3
BU mmol/L	MW	8,30	9,15	4,38	6,46	8,62	6,45	6,78	7,09	5,94	6,84	6,43	6,53	8,30
	SD	1,69	0,75	0,96	0,87	0,97	1,23	1,12	1,02	0,28	1,03	1,39	0,82	1,40
	N	120	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3
GLDH U/L	MW	16,45	25,70	19,55	28,76	17,71	19,65	44,15	21,11	20,47	25,64	17,94	24,59	37,77
	SD	7,29	5,50	1,74	12,24	8,50	4,14	32,27	7,93	5,28	4,21	5,91	16,13	21,64
	N	51	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3
AST U/L	MW	38,38	34,77	67,29	48,25	32,35	35,19	34,15	29,48	34,96	36,39	61,28	37,14	31,75
	SD	14,64	6,57	35,62	22,14	6,03	8,24	12,43	8,34	6,65	2,06	20,75	6,05	3,02
	N	120	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3
ALT U/L	MW	39,75	9,35	21,83	24,24	5,41	19,93	38,03	8,54	24,40	27,34	10,42	27,47	37,62
	SD	17,89	3,44	5,11	10,17	5,71	2,95	23,05	4,40	5,43	8,29	4,45	13,06	15,86
	N	120	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3
ALP U/L	MW	609,62	362,16	307,27	480,24	367,63	289,37	467,38	306,97	291,77	480,71	375,01	253,00	431,82
	SD	286,81	87,02	118,53	67,02	77,45	61,00	70,15	77,68	64,84	60,02	98,10	86,88	61,04
	N	120	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3
GGT U/L	MW	78,84	135,53	106,59	121,53	122,88	135,25	124,69	119,81	127,90	127,72	106,86	115,94	108,95
	SD	31,06	22,32	33,32	26,83	30,64	41,19	29,33	30,49	36,69	16,67	21,64	32,99	11,13
	N	120	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3
GLUC mmol/L	MW	3,93	3,37	4,83	4,35	4,12	5,14	4,23	4,01	3,87	3,82	4,02	5,13	4,86
	SD	0,87	1,00	0,94	0,50	1,03	1,88	0,17	0,51	0,79	0,44	0,74	0,63	0,43
	N	120	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3
CHOL mmol/L	MW	3,18	2,56	2,16	2,00	2,21	2,40	2,41	2,40	2,62	2,43	2,20	2,82	2,82
	SD	0,84	0,30	0,47	0,32	0,27	0,20	0,46	0,43	0,39	0,35	0,34	0,50	0,64
	N	120	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3
TRIG mmol/L	MW	0,48	1,08	0,64	0,83	0,57	0,62	0,69	0,55	0,53	0,55	0,42	0,44	0,64
	SD	0,23	0,42	0,17	0,03	0,16	0,13	0,20	0,09	0,17	0,07	0,20	0,08	0,15
	N	116	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3
PHOS mmol/L	MW	2,03	1,77	1,48	1,32	1,70	1,91	2,09	1,68	2,18	2,16	1,74	2,07	2,04
	SD	0,40	0,50	0,35	0,25	0,36	0,44	0,31	0,29	0,27	0,15	0,39	0,50	0,17
	N	120	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3
CA mmol/L	MW	2,81	2,83	2,54	2,52	2,59	2,61	2,59	2,68	2,67	2,52	2,60	2,64	2,70
	SD	0,35	0,15	0,17	0,05	0,05	0,30	0,22	0,12	0,19	0,05	0,15	0,23	0,25
	N	120	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3
NA mmol/L	MW	152,34	148,21	151,52	146,88	146,57	149,63	148,15	150,18	149,60	144,06	146,00	152,32	152,84
	SD	5,36	4,81	2,99	2,29	2,66	9,58	5,67	3,15	9,76	2,30	2,81	4,67	1,58
	N	120	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3
K mmol/L	MW	5,44	5,66	5,26	5,04	4,62	5,46	5,56	5,17	5,34	5,13	4,64	5,02	4,92
	SD	0,65	0,71	0,60	0,48	0,52	1,32	0,57	0,69	0,80	0,24	0,62	1,06	0,44
	N	120	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3
CL mmol/L	MW	110,18	111,86	115,44	110,66	110,14	110,06	109,93	112,80	110,45	107,43	109,10	111,85	113,30
	SD	3,12	4,82	4,09	3,45	1,80	7,86	7,98	3,71	8,07	2,83	2,50	4,43	2,33
	N	120	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3
TP g/L	MW	88,79	86,71	81,38	77,50	81,17	87,15	82,88	82,47	86,04	80,57	78,73	89,41	86,94
	SD	6,92	6,28	3,19	0,95	3,24	7,14	4,14	4,11	5,77	1,84	4,17	5,75	6,46
	N	120	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3
ALB g/L	MW	55,13	46,13	44,92	40,55	43,10	49,55	42,87	46,64	46,10	42,87	41,66	48,13	49,57
	SD	4,80	5,56	3,87	2,22	1,77	5,17	3,01	5,49	5,73	1,96	2,27	5,09	5,67
	N	120	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3

MW: Mittelwert

SD: Standardabweichung

N: Anzahl

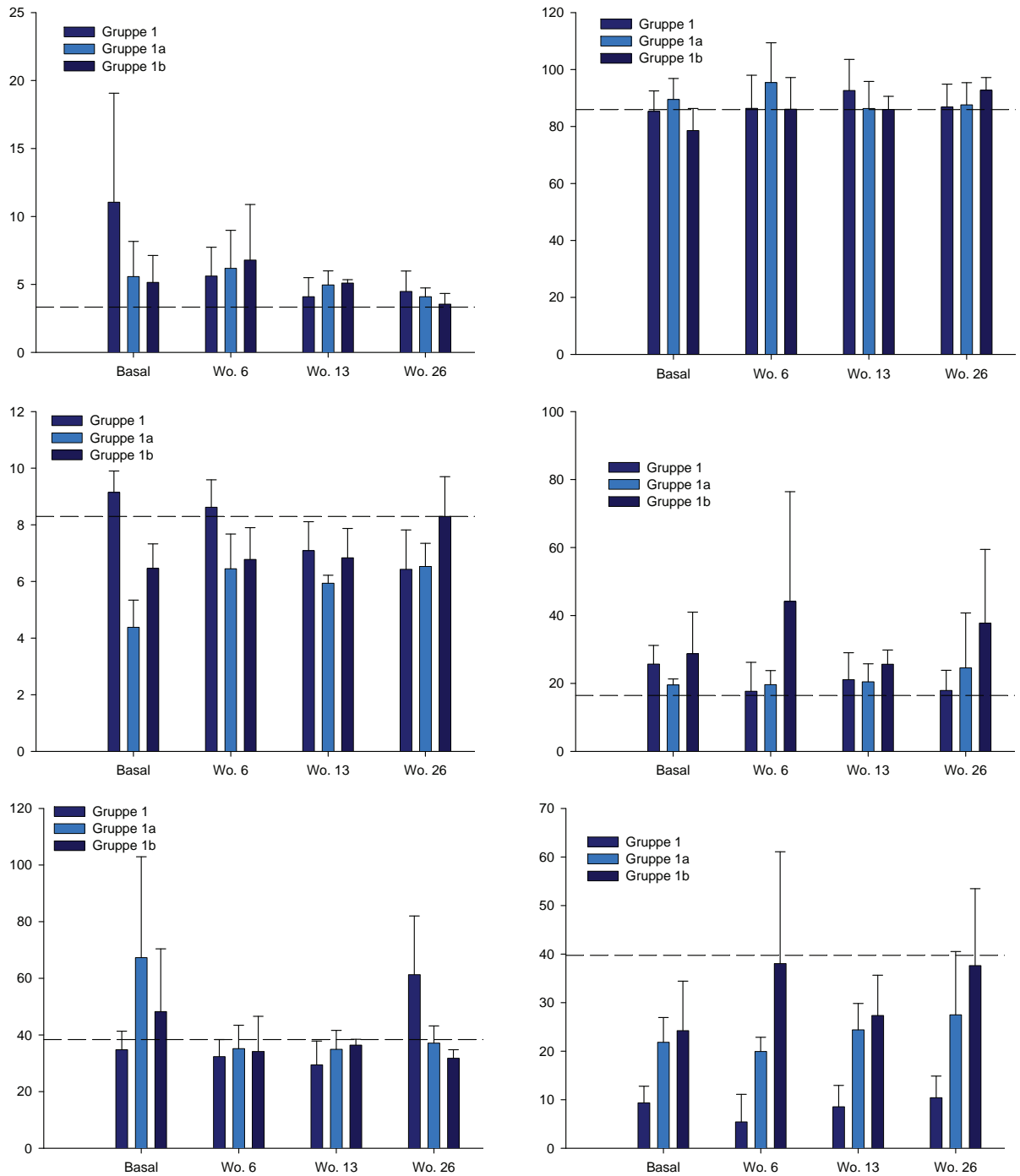


Abbildung 8a: Die Gruppenmittelwerte für TBIL, CREA, BU, GLDH, AST und ALT für die Gruppen 1, 1a und 1b über jeweils 26 Wochen. Gezeigt sind die Gruppenmittelwerte mit den Standardabweichungen. Die gestrichelte Linie zeigt die jeweiligen Normalwerte der einzelnen Parameter.

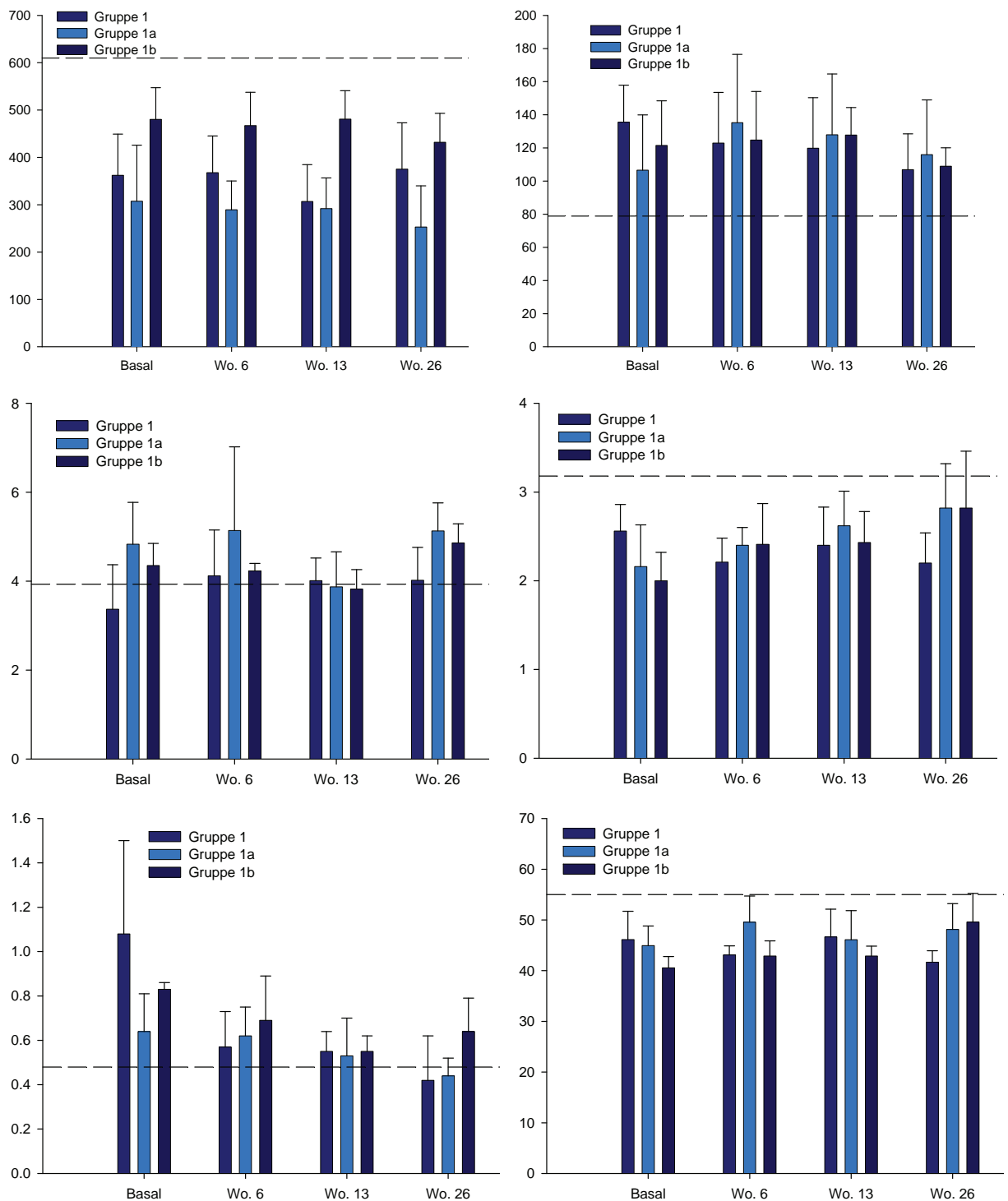


Abbildung 8b: Die Gruppenmittelwerte für ALP, GGT, GLUC, CHOL, TRIG und ALB für die Gruppen 1, 1a und 1b über jeweils 26 Wochen. Gezeigt sind die Gruppenmittelwerte mit den Standardabweichungen. Die gestrichelte Linie zeigt die jeweiligen Normalwerte der einzelnen Parameter.



#### 4.4 Referenzdaten zum Körpergewicht

Um die Körpergewichtsentwicklungen beurteilen zu können, wurden die individuellen Körpergewichte der Studientiere mit den Körpergewichten eines gleichgeschlechtlichen Referenzkollektives verglichen. Dieses setzte sich aus 44 weiblichen und 45 männlichen Tieren zusammen, bei denen die Körpergewichte über 52 Wochen (Einzelhaltung) aufgezeichnet wurden. Die Gruppe männlicher Tiere (Ausgangskörpergewicht 4.5 kg) zeigt einen stetigen Anstieg im Körpergewicht, der am Ende der 52 Wochen >25 % beträgt. Bei den weiblichen Tieren (Ausgangskörpergewicht 3.5 kg) verhalten sich die Körpergewichte anfänglich stabil und steigen erst ab der Woche 17 stetig an. Nach 52 Wochen lag der Zuwachs mit knapp 10 %, deutlich unter dem der männlichen Tiere. Die entsprechenden Mittelwerte dieser Referenztiere sind der Tabelle 6 und der Abbildung 9 zu entnehmen. Ferner wurden die Daten in den Tabellen 7, 9, 11 und 13 als Referenz mit aufgeführt. Die Entwicklung des Körpergewichtes wurde in den einzelnen Gruppen über unterschiedlich lange Zeiträume wie folgt bestimmt: Bei den männlichen Tieren der Gruppe 1, 1a, 1b, 2a bis 2c über 26 Wochen, bei den Gruppen 2 bis 4 über 13 Wochen und bei den weiblichen Tieren der Gruppe 1 über 52 Wochen.

Tabelle 6: Körpergewichte der männlichen und weiblichen Referenztiere. Gezeigt sind die Mittelwerte [in kg (oben) und % (unten)] mit dem jeweiligen Standardfehler über 52 Wochen.

		Basal	3	6	9	11	13	17	21	26	30	33	36	38	40	44	48	52
Körpergewicht (kg)																		
Männchen	N=45	4.5	4.7	4.8	4.7	4.9	4.8	5.0	5.0	5.0	5.2	5.3	5.3	5.4	5.4	5.5	5.6	5.6
	SE	0.11	0.11	0.11	0.11	0.12	0.12	0.11	0.11	0.12	0.12	0.13	0.13	0.13	0.12	0.12	0.13	0.11
Weibchen	N=44	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.4	3.4	3.4	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.6	3.6	3.6
	SE	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.09	0.09	0.08	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
prozentuale Änderung (%)*																		
Männchen	N=45	0.0	3.7	5.8	4.9	7.6	7.0	10.1	11.7	11.8	15.5	17.7	19.1	19.5	20.0	23.3	25.2	26.1
	SE	0.00	0.52	0.73	0.79	0.94	1.00	1.04	1.29	1.43	1.55	1.78	1.96	1.87	1.93	2.01	2.15	2.28
Weibchen	N=44	0.0	-0.1	-0.4	-0.4	0.4	0.6	2.4	2.9	3.4	4.3	5.7	6.8	6.6	7.0	7.8	9.1	8.2
	SE	0.00	0.61	0.73	0.94	1.02	1.03	1.22	1.27	1.46	1.37	1.44	1.67	1.85	1.87	2.02	2.14	2.19

\*: errechnet durch die Mittelwertkalkulation der individuellen prozentualen Änderungen

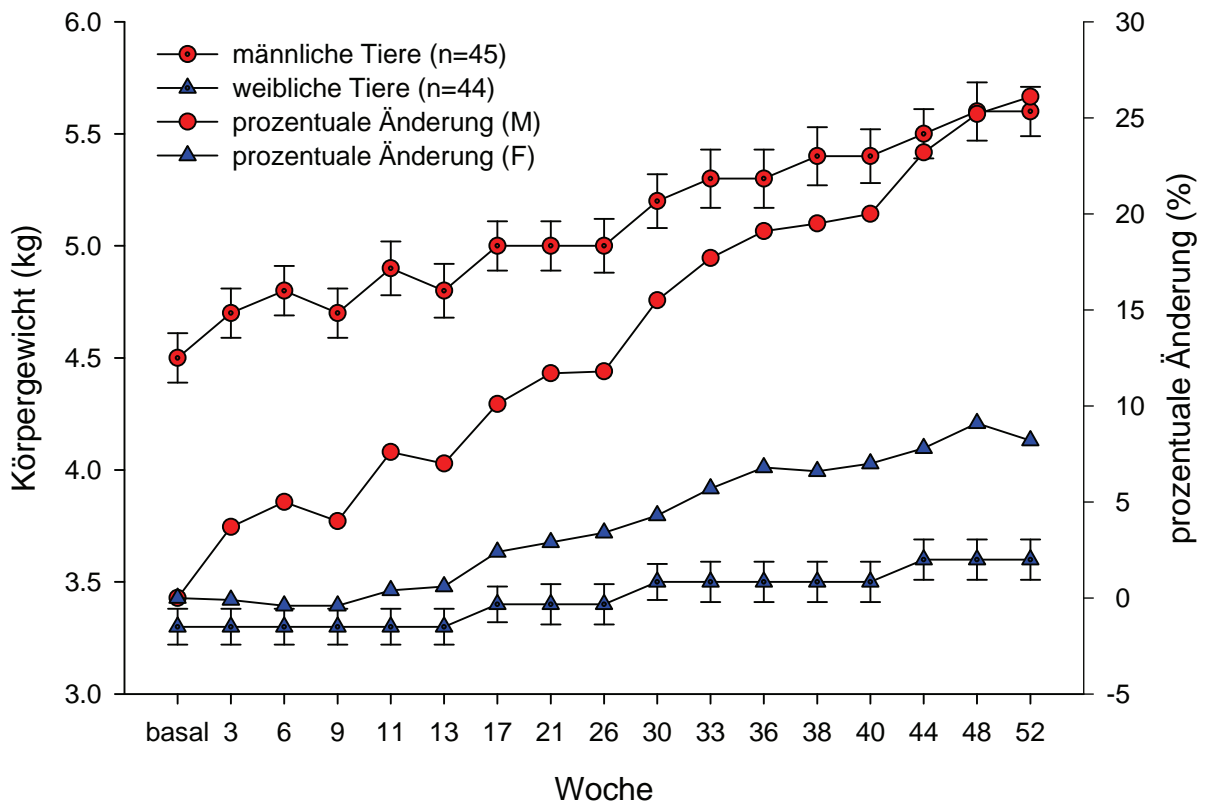


Abbildung 9: Körpergewichte der männlichen (Kreis, rot) und weiblichen (Dreieck, blau) Referenztiere. Gezeigt sind die Mittelwerte [(in kg mit den Standardabweichungen) und (in % ohne Standardabweichung)]. Die maximale Zunahme lag bei den männlichen Tieren bei etwa 25 %, für die weiblichen Tiere bei etwa 10 % nach 52 Wochen.

#### 4.5 Referenzdaten zum Hodenvolumen

Um eine Aussage über die Präzision, der mittels Schublehrenmethode (vergleiche 3.5), ermittelten Hodenvolumen volumina treffen zu können, wurden die Daten von über 100 geschlechtsreifen Javaneraffen (*Macaca fascicularis*), mit wiederholten Hodenmessungen ausgewertet. Von diesen Messungen wurden die jeweiligen Standardabweichungen dem Variationskoeffizienten gegenübergestellt. Aus diesen Daten konnte eine „normale Variation“ für wiederholte Hodenmessungen ermittelt werden. Danach lag die mittlere Variation bei etwa  $\pm 8 \%$ , wobei die Variation für diese Studie auf  $\pm 15 \%$  festgelegt wurde, um Hintergrundbefunde sicher ausschließen zu können. Für diesen Wert hat man sich entschieden, da mehr als 95 % der Werte innerhalb dieser Variation liegen. Daher werden in dieser Arbeit lediglich Änderungen von mehr als  $\pm 15 \%$  als Effekt interpretiert (Abbildung 10).

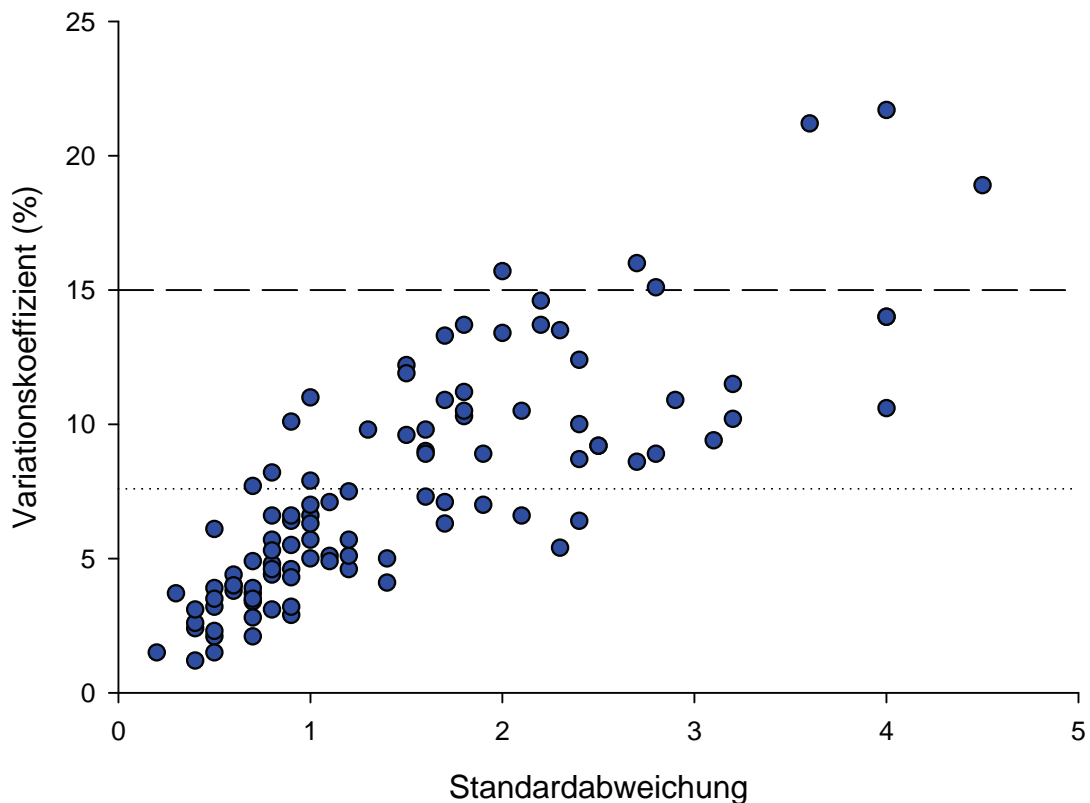


Abbildung 10: Variationskoeffizient (VK) für 3 Wiederholungsmessungen (linker und rechter Hoden addiert) von 101 unbehandelten, einzeln gehaltenen Tieren. Die gepunktete Linie zeigt den mittleren VK von  $\pm 8\%$ , die gestrichelte den für diese Arbeit festgelegten VK von  $\pm 15\%$ . Schwankungen innerhalb dieser Range werden als normale bzw. erlaubte Variation angesehen und nicht als Effekt interpretiert.

#### 4.6 Männliche Tiere der Gruppe 1

Durch die Beobachtungen dieser Tiere sollte die Frage beantwortet werden, ob es durch die Ausbildung einer Rangordnung innerhalb einer neuformierten Gruppe geschlechtsreifer, männlicher Javaneraffen zu nachweisbaren Veränderungen kommen kann. Dabei lag das Hauptaugenmerk auf den Fertilitätsparametern, aber auch das Körpergewicht und Standardparameter der klinischen Chemie (vergleiche 4.3) wurden ausgewertet.

##### 4.6.1 Körpergewicht

Bei den männlichen Tieren der Gruppe 1 fällt zum einen auf, dass die Körpergewichte im Mittel innerhalb der ersten Wochen bis zur Woche 9 nach Gruppenbildung stagnieren bzw. leicht zurückgegangen sind. Danach steigen sie analog zu den Referenzwerten wieder kontinuierlich an. Insgesamt bleiben die Zuwächse über 26 Wochen (ca. 8 %) hinter den des Referenzkollektives (ca. 12 %) zurück (Abbildung 11).

Bei individueller Betrachtung erkennt man, dass vorwiegend die beiden Tiere mit höherem sozialem Rang (21516, 21852) anfangs eher an Körpergewicht verlieren (Abbildung 12). Die Körpergewichte der Tiere niederen Ranges steigen an (22107, 21830) bzw. bleiben stabil (21813, 21914). Im Vergleich mit dem männlichen Referenzkollektiv ist die Körpergewichtsentwicklung tendenziell aber durchaus vergleichbar. Über den Zeitraum von 26 Wochen haben alle Tiere an Körpergewicht gewonnen (bis zu 20 %), wobei die Zuwächse bei den Tieren mit niedrigerem Ausgangsgewicht am deutlichsten ausgeprägt sind, wie man der Tabelle 7 und der Abbildung 11 und 12 sowie 20a/b entnehmen kann. Im Mittel betragen die Körpergewichtszunahmen in dieser Gruppe 10 % (Referenz ca. 12 %). Eine statistische Signifikanz konnte hier lediglich in der Woche 17 nachgewiesen werden.

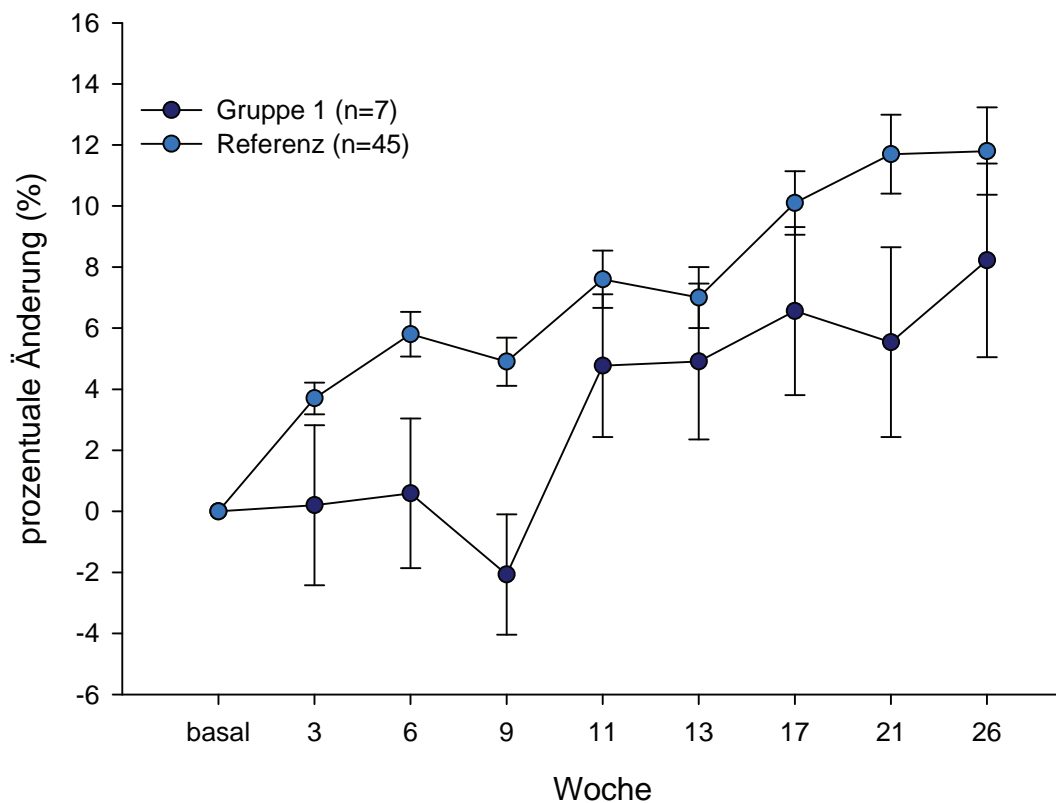


Abbildung 11: Mittlere prozentuale Änderungen im Körpergewicht bei den Tieren der Gruppe 1 über 26 Wochen. Die hellen Kreise beschreiben die Körpergewichtsentwicklung des Referenzkollektives. Gezeigt sind die Mittelwerte mit dem Standardfehler.

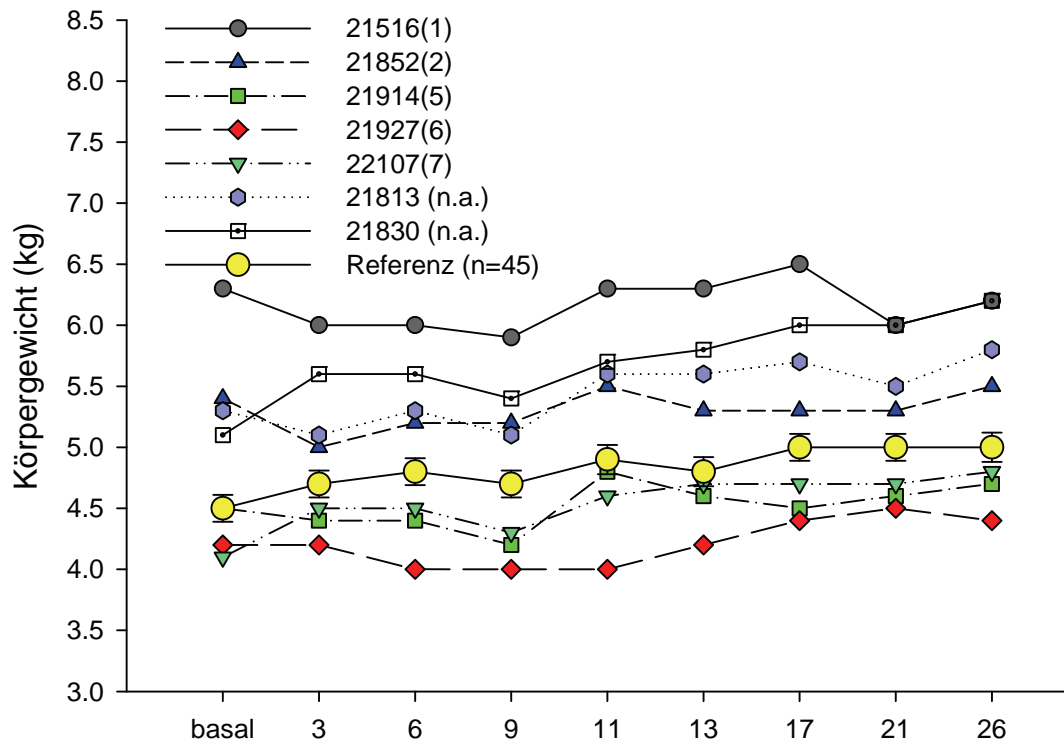


Abbildung 12: Individuelles Körpergewicht von den Tieren der Gruppe 1 über 26 Wochen. Die gelben Punkte zeigen dazu im Vergleich das Referenzkollektiv mit dem Standardfehler.

Tabelle 7: Körpergewichte der männlichen Tiere aus Gruppe 1 [Siebenergruppe, in kg (oben) und % (unten)] über 26 Wochen. Der soziale Rang ist in Klammern hinter der Tiernummer angegeben. Die letzte Zeile zeigt die Körpergewichtsentwicklung eines Referenzkollektives.

Tier- nummer	Gruppe	Basal	Woche 3	Woche 6	Woche 9	Woche 11	Woche 13	Woche 17	Woche 21	Woche 26
Körpergewicht (kg)										
21516(1)	1	6.3	6.0	6.0	5.9	6.3	6.3	6.5	6.0	6.2
21813 (n.a.)	1	5.3	5.1	5.3	5.1	5.6	5.6	5.7	5.5	5.8
21830 (n.a.)	1	5.1	5.6	5.6	5.4	5.7	5.8	6.0	6.0	6.2
21914(5)	1	4.5	4.4	4.4	4.2	4.8	4.6	4.5	4.6	4.7
21927(6)	1	4.2	4.2	4.0	4.0	4.0	4.2	4.4	4.5	4.4
22107(7)	1	4.1	4.5	4.5	4.3	4.6	4.7	4.7	4.7	4.8
21852(2)	1	5.4	5.0	5.2	5.2	5.5	5.3	5.3	5.3	5.5
MW		5.0	5.0	5.0	4.9	5.2	5.2	5.3	5.2	5.4
Referenz		4.5	4.7	4.8	4.7	4.9	4.8	5.0	5.0	5.0
prozentuale Änderung (%)										
21516(1)	1	0.0	-4.8	-4.8	-6.3	0.0	0.0	3.2	-4.8	-1.6
21813 (n.a.)	1	0.0	-3.8	0.0	-3.8	5.7	5.7	7.5	3.8	9.4
21830 (n.a.)	1	0.0	9.8	9.8	5.9	11.8	13.7	17.6	17.6	21.6
21914(5)	1	0.0	-2.2	-2.2	-6.7	6.7	2.2	0.0	2.2	4.4
21927(6)	1	0.0	0.0	-4.8	-4.8	-4.8	0.0	4.8	7.1	4.8
22107(7)	1	0.0	9.8	9.8	4.9	12.2	14.6	14.6	14.6	17.1
21852(2)	1	0.0	-7.4	-3.7	-3.7	1.9	-1.9	-1.9	-1.9	1.9
MW		0.0	0.2	0.6	-2.1	4.8	4.9	6.5	5.5	8.2
Referenz		0.0	3.7	5.8	4.9	7.6	7.0	10.1	11.7	11.8

#### 4.6.2 Hodenvolumen

Es zeigte sich, dass die Hodenvolumina im Mittel nur leicht schwanken und sich immer innerhalb der normalen Variation von  $\pm 15\%$  bewegen (Abbildung 13a). Bei individueller Betrachtung der einzelnen Tiere fällt auf, dass die Hodenvolumina der drei Tiere mit niedrigem sozialen Rang (21914, 21927, 22107) sehr bald nach der Gruppenformierung abnehmen, wobei die Hodenvolumina der höherrangigen Tiere (21516, 21852) lediglich innerhalb der normalen Variation von  $\pm 15\%$  schwanken (Abbildung 13b). Schon 6 bis 9 Wochen nach der Gruppenformierung sind die Hodenvolumina der Tiere mit niedrigem sozialen Rang um 30 bis 45 % zurückgegangen, steigen ab der Woche 13 wieder an, und erreichen nach 26 Wochen wieder nahezu die Ausgangswerte (Abbildung 13b, Tabelle 8). Besonders hervorzuheben ist hierbei das Tier 21927, welches von Woche 17 bis Woche 26 kontinuierlich enorm starke Zunahmen im Hodenvolumen zeigt. Dieses Tier wurde aufgrund einer Fraktur von der Gruppe isoliert und vorübergehend in eine Einzelhaltung verbracht. Eine statistische Signifikanz konnte hier nicht nachgewiesen werden. Bei drei Tieren (21927, 22107, 21927) haben die Hodenvolumina aber kontinuierlich über 6 bis 8 Messzeitpunkte abgenommen.

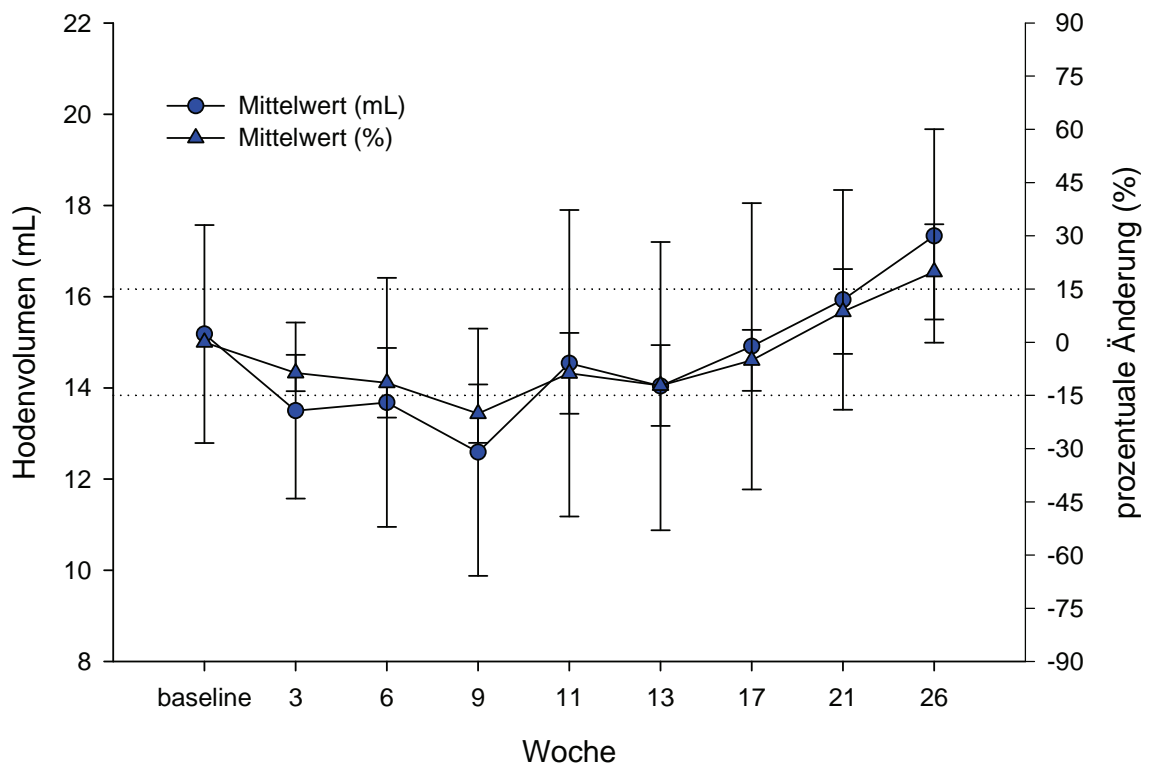


Abbildung 13a: Mittlere Änderungen im Hodenvolumen aller sieben Tiere (Mittelwert und Standardfehler) in Prozent (Dreieck) und als Absolutwerte (Kreis). Die gepunkteten Linien beschreiben den normalen Variationskoeffizienten ( $\pm 15\%$ ).

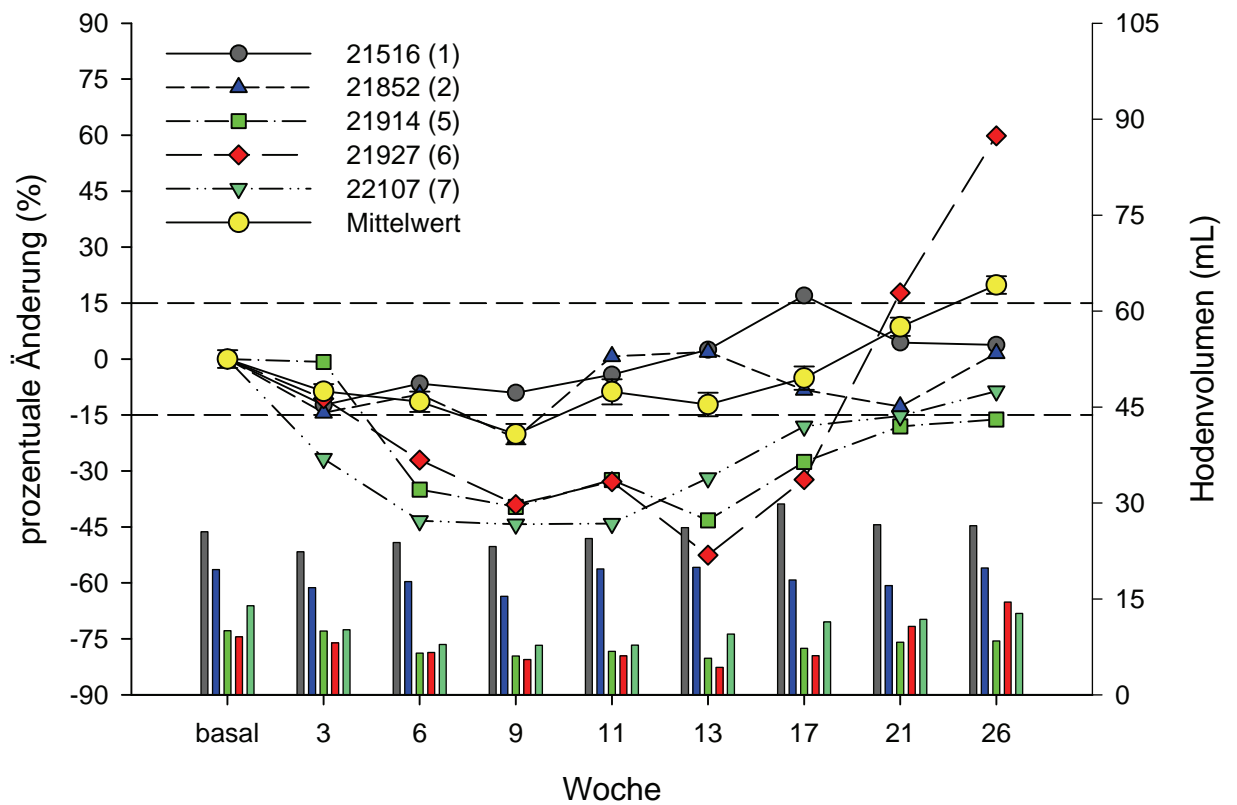


Abbildung 13b: Prozentuale (Linien) und absolute (Balken) Änderungen im Hodenvolumen bei Tieren der Gruppe 1 (Siebenergruppe) über 26 Wochen nach Gruppenformierung. Gezeigt werden nur die Tiere deren Rang eindeutig bestimmt werden konnte. Die gestrichelten Linien beschreiben den normalen Variationskoeffizienten ( $\pm 15$  Prozent).

Tabelle 8: Hodenvolumen der Tiere aus Gruppe 1 [Siebenergruppe, in mL (oben) und % (unten)]. Die Zahlen in Klammern hinter den Tiernummer geben Auskunft über den sozialen Rang innerhalb der Gruppe.

Tier- nummer	Gruppe	Basal	Woche 3	Woche 6	Woche 9	Woche 11	Woche 13	Woche 17	Woche 21	Woche 26
Hodenvolumen (mL)										
21516 (1)	1	25.5	22.4	23.8	23.2	24.4	26.1	29.8	26.6	26.5
21813 (n.a.)	1	9.3	10.8	11.9	9.6	10.1	11.8	11.9	16.1	16.4
21830 (n.a.)	1	18.8	16.5	21.2	20.6	26.9	20.9	19.9	21.0	22.9
21914 (5)	1	10.1	9.9	6.5	6.1	6.8	5.7	7.3	8.2	8.4
21927 (6)	1	9.1	8.1	6.6	5.5	6.1	4.3	6.2	10.7	14.5
22107 (7)	1	13.9	10.2	7.9	7.8	7.8	9.5	11.4	11.8	12.7
21852 (2)	1	19.6	16.8	17.7	15.5	19.7	19.9	17.9	17.1	19.9
MW		15.2	13.5	13.7	12.6	14.5	14.0	14.9	15.9	17.3
prozentuale Änderung (%)										
21516 (1)	1	0.0	-12.3	-6.6	-9.1	-4.2	2.5	17.0	4.4	3.8
21813 (n.a.)	1	0.0	16.7	28.9	2.9	8.5	26.7	27.7	73.1	76.9
21830 (n.a.)	1	0.0	-12.6	12.5	9.3	42.9	11.2	5.6	11.5	21.6
21914 (5)	1	0.0	-0.8	-35.0	-39.6	-32.4	-43.2	-27.6	-18.1	-16.2
21927 (6)	1	0.0	-10.6	-27.1	-39.0	-32.9	-52.6	-32.3	17.7	59.8
22107 (7)	1	0.0	-26.7	-43.4	-44.3	-44.1	-31.9	-18.0	-15.3	-8.6
21852 (2)	1	0.0	-14.4	-9.5	-21.2	0.7	1.9	-8.3	-12.8	1.5
MW		0.00	-8.67	-11.46	-20.14	-8.79	-12.20	-5.13	8.64	19.83



### 4.6.3 Spermienzahl

Die Spermienzahl blieb über die Dauer von 26 Wochen nahezu unverändert, wie der Abbildung 14a besonders an den Mittelwertdaten (gelb) der Gruppe 1 zu entnehmen ist. Alle Tiere sind zu Beginn der Studie fertil, und Spermien wurden im Ejakulat nachgewiesen. Dieser Nachweis konnte auch am Ende der Beobachtungsphase gemacht werden. Aus Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen ist bekannt, dass die Spermienzahlen individuell sehr stark schwanken können (Dua und Vaidaya 1996). Es lässt sich auch keine Korrelation zwischen sozialem Rang und der Spermienzahl ermitteln. Tendenziell wird aber auch deutlich, dass Tiere niedrigeren Ranges weniger Ejakulat aufweisen und weniger Spermien im Ejakulat zeigen, als Tiere höheren Ranges (Abbildung 14a/b). Die Neuformierung einer Gruppe hatte hier sicher keine totale Sterilisation einzelner Tiere zur Folge.

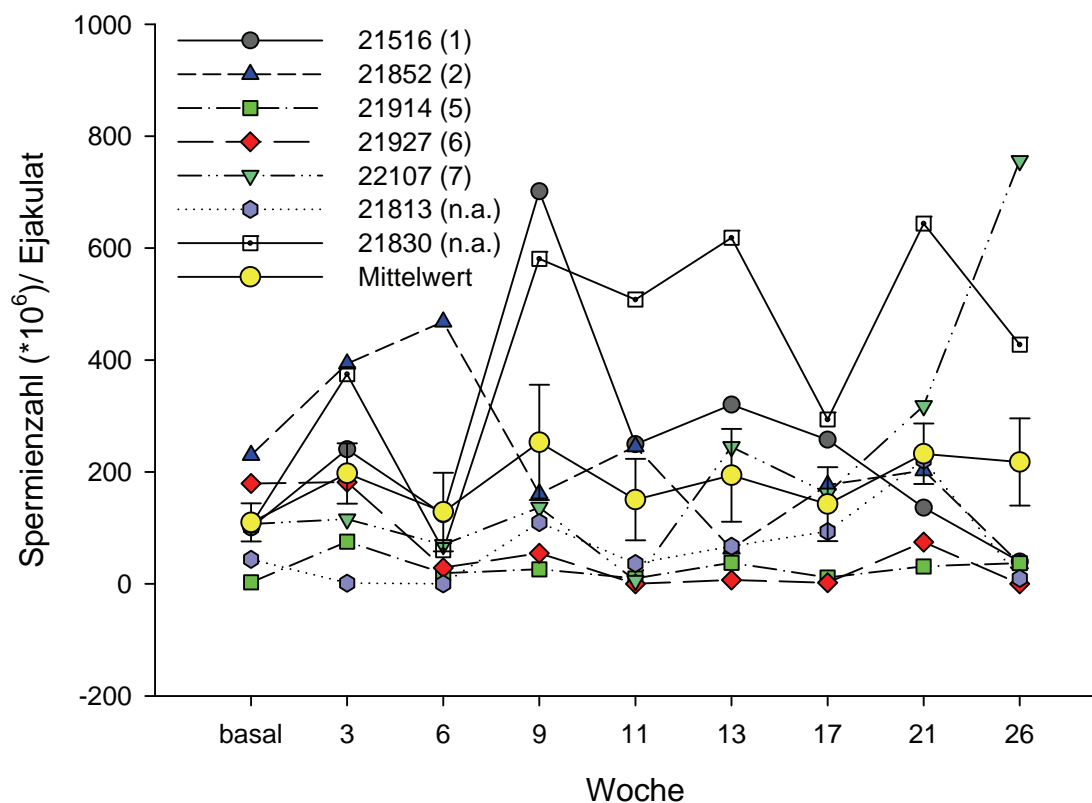


Abbildung 14a: Individuellen Spermienzahlen von allen Tieren der Gruppe 1 über den Beobachtungszeitraum von 26 Wochen. Die gelben Kreise beschreiben dabei die mittleren Spermienzahlen mit dem Standardfehler.

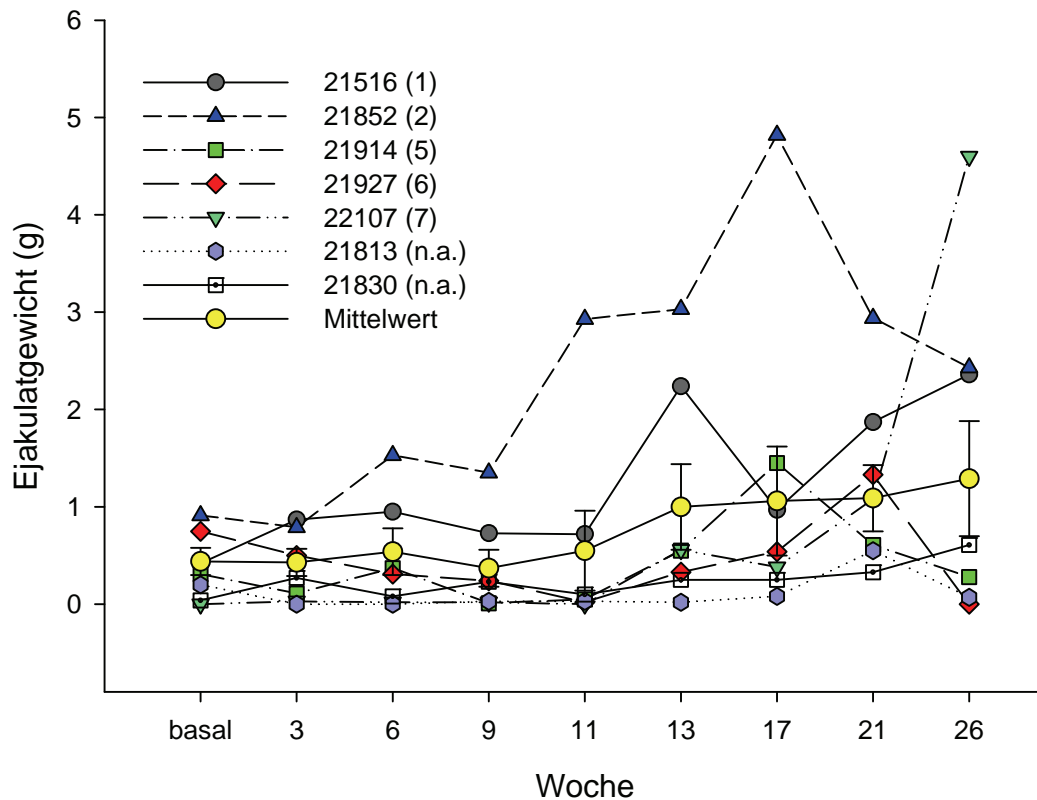


Abbildung 14b: Die individuellen Ejakulatgewichte von allen Tieren der Gruppe 1 über den Beobachtungszeitraum von 26 Wochen. Die gelbe Linie beschreibt dabei die mittleren Ejakulatgewichte mit dem Standardfehler.

#### 4.6.4 Spermienmotilität

Auch in der Spermienmotilität bei den Tieren der Gruppe 1 konnten keinerlei Änderungen über den Verlauf von 26 Wochen nach der Gruppenformierung gefunden werden. Ebenso konnte keinerlei Zusammenhang zwischen der Motilität und dem sozialen Rang der Tiere ermittelt werden (Abbildung 15).

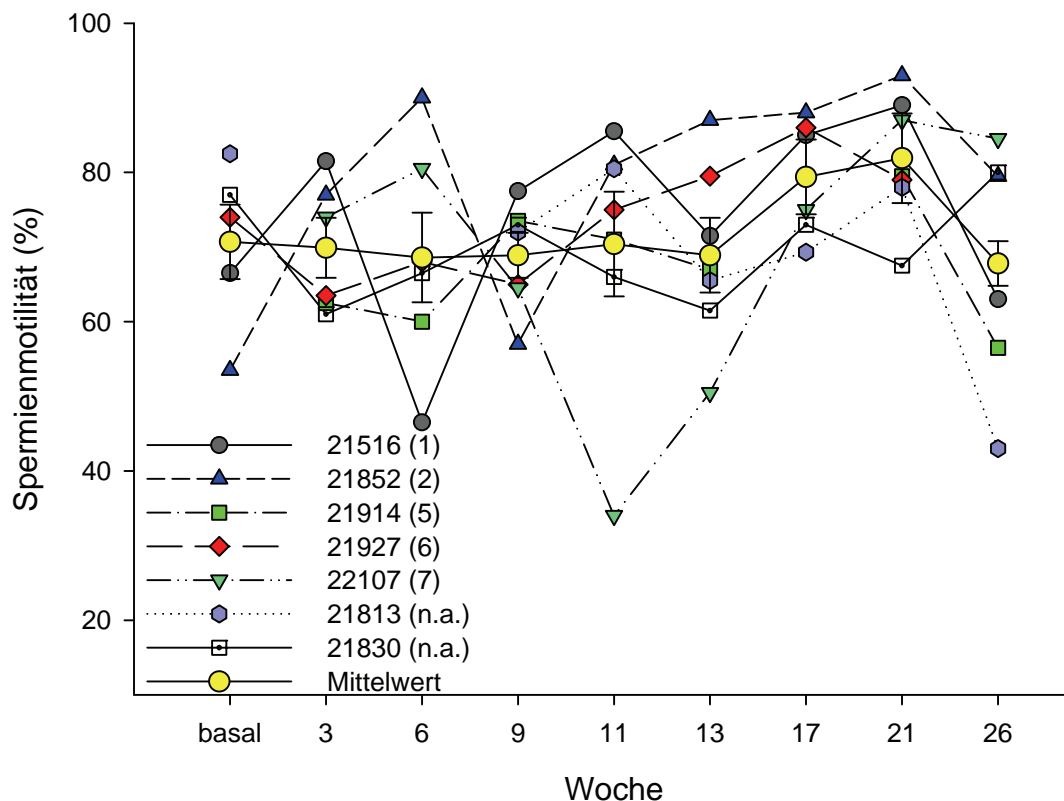


Abbildung 15: Individuelle Spermienmotilität von allen Tieren der Gruppe 1 über den Beobachtungszeitraum von 26 Wochen. Die gelben Datenpunkte zeigen dabei die mittleren Änderungen zusammen mit dem Standardfehler.

Damit kann zusammenfassend für die Ejakulatuntersuchungen gesagt werden, dass die Neuformierung einer Gruppe geschlechtsreifer männlicher Tiere keinerlei Einfluss auf die Spermienmotilität oder die Spermienanzahl hat und diese Werte auch nicht mit dem individuellen Rang korrelieren.

#### 4.6.5 Follikel-Stimulierendes-Hormon (FSH)

Das FSH bindet an spezifische Rezeptoren der Sertoli Zellen und stimuliert die ersten Schritte der Spermatogenese sowie die Bildung androgenbindender Proteine. Die für diese Arbeit zur Interpretation herangezogenen Referenzdaten beziehen sich auf 20 Tiere. Im Mittel hatten diese Tiere einen FSH Wert von 0.9 ng/mL, die Nachweisgrenze des verwendeten Assays lag bei 0.134 bis 0.533 ng/mL.

Für die FSH-Werte der Gruppe 1 wurde ein leichter, aber kontinuierlicher Anstieg gemessen (Abbildung 16). Dieser Anstieg ist aber vermutlich auf einzelne Tiere (21914 und 21830), bei denen die Werte teilweise sehr stark angestiegen sind, zurückzuführen. In einem Tier niederen Ranges (21914) und hohen Ranges (21516) betrugen die Zunahmen nahezu 50 % (ab Woche 9), bei einem Tier (21830) hat sich der FSH Spiegel sogar verdreifacht. Hier gibt es keinen Unterschied in der Höhe der FSH Spiegel zwischen hochrangigen und Tieren mit niedrigerem sozialem Rank (Abbildung 16). Insgesamt lässt sich aber kein signifikanter Effekt im FSH Spiegel nachweisen. Interessant hierbei ist wieder das Tier 21927, da hier nicht wie erwartet der FSH Spiegel stark ansteigt, was bei den massiven Zunahmen im Hodenvolumen ab der Woche 17 zu erwarten gewesen wäre.

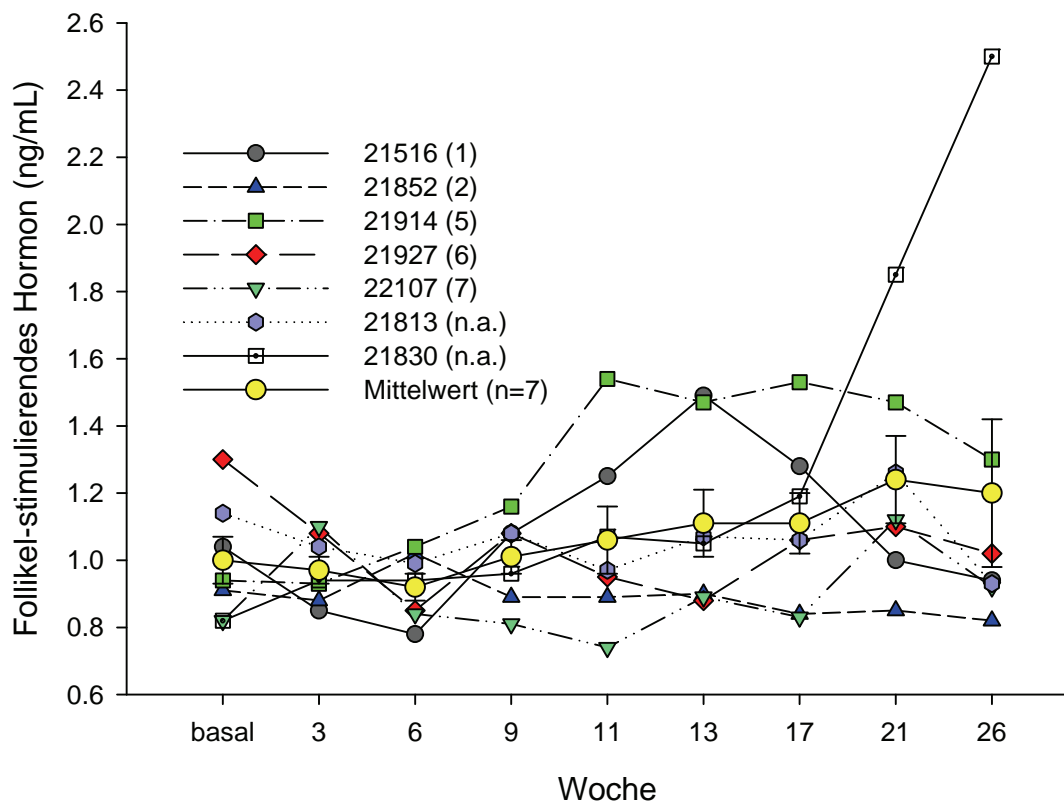


Abbildung 16: Individuelle FSH Werte (ng/mL) von Tieren der Gruppe 1, Mittelwerte (gelb) mit Standardfehler.

#### 4.6.6 Inhibin-B

Inhibin B stellt im männlichen Organismus das negative Rückkopplungssignal aus dem Hoden (Sertolizellen) für die Sekretion von FSH dar. Die Inhibin-B-Konzentration im Serum korreliert sehr gut mit der Spermatogenese.

Die Inhibin-B Spiegel der Tiere aus Gruppe 1 zeigen initial im Mittel einen deutlichen Rückgang, bis zur Woche 6 nach der Gruppenformierung (Abbildung 17). Danach ist aber wieder ein leichter Anstieg zu beobachten. Auch die Inhibin-B Werte liegen bei den Tieren höheren sozialen Ranges höher, als bei Tieren mit niedrigerem Rang; was auch für die Testosteronwerte festgestellt wurde (vergleiche 4.6.7). Die Woche 6, 13 und 26 zeigten eine statistische Signifikanz. Dennoch ist insgesamt für die Inhibinwerte kein Effekt auszumachen, der auf die Gruppenneuformation zurückzuführen wäre. Die nachgewiesenen Signifikanzen sind vermutlich ein Resultat der starken Abnahmen einzelner Tiere.

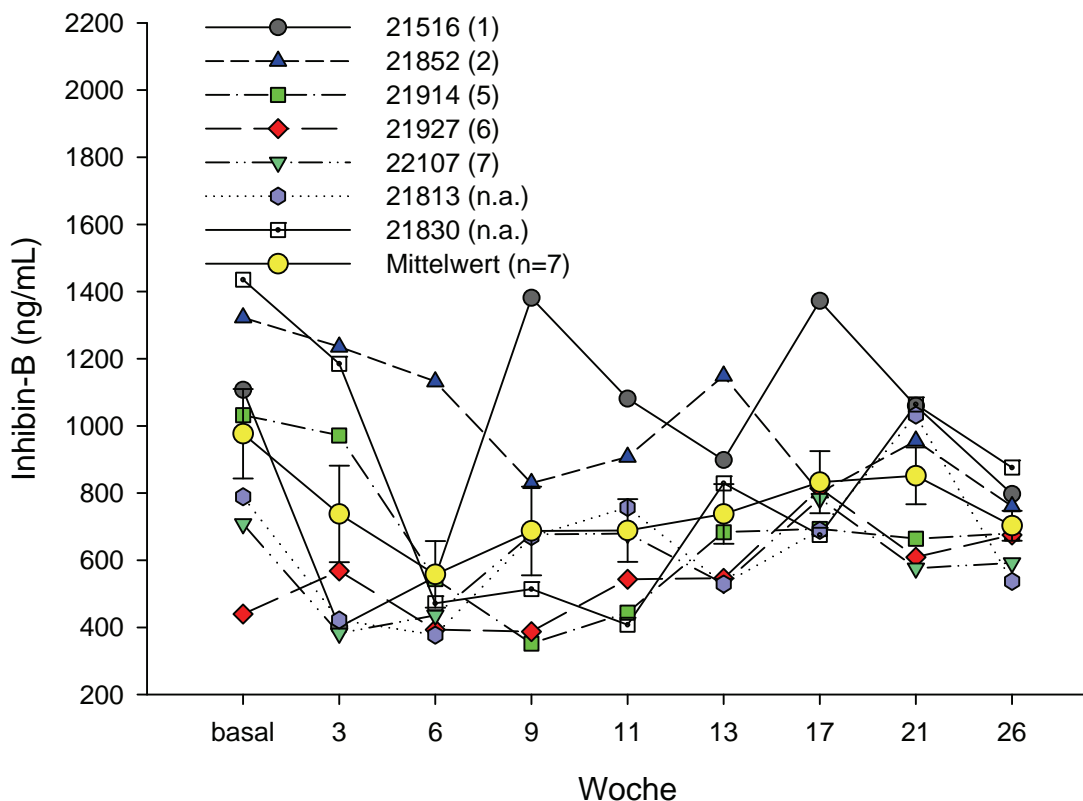


Abbildung 17: Individuelle Inhibin B Werte (ng/mL) von Tieren der Gruppe 1, Mittelwerte (gelb) mit Standardfehler.

#### 4.6.7 Testosteron

Das Testosteron gilt als ein wichtiger Marker der Spermatogenese. Die für diese Arbeit zur Interpretation herangezogenen Referenzdaten beziehen sich auf 30 Tiere. Im Mittel hatten diese Tiere einen Testosteronwert von 23.08 nmol/L. Die Nachweisgrenze des Assays lag bei 0.174 nmol/L.

Die Testosteronwerte bei den männlichen Tieren der Gruppe 1 verlaufen über den Zeitraum der ersten 26 Wochen nach der Gruppenformierung mit leicht steigender Tendenz, wobei die Werte bei den Tieren mit generell höheren Testosteron Werten auch stärker schwanken (Abbildung 18). Die Tiere mit dem höheren sozialen Rang (21516, 21852), zeigen auch höhere Testosteronspiegel, wobei das Tier 21914 mit deutlich erhöhten basalen Testosteronwerten, hier eine Ausnahme darstellt. Im Mittel ist bis zur Woche 9 eine leichte Reduktion zu erkennen, danach steigen die Testosteronwerte aber wieder kontinuierlich an. Bei dem Tier 21927 steigen, analog zu dem Hodenvolumen, die Testosteronwerte ab der Woche 17 an.

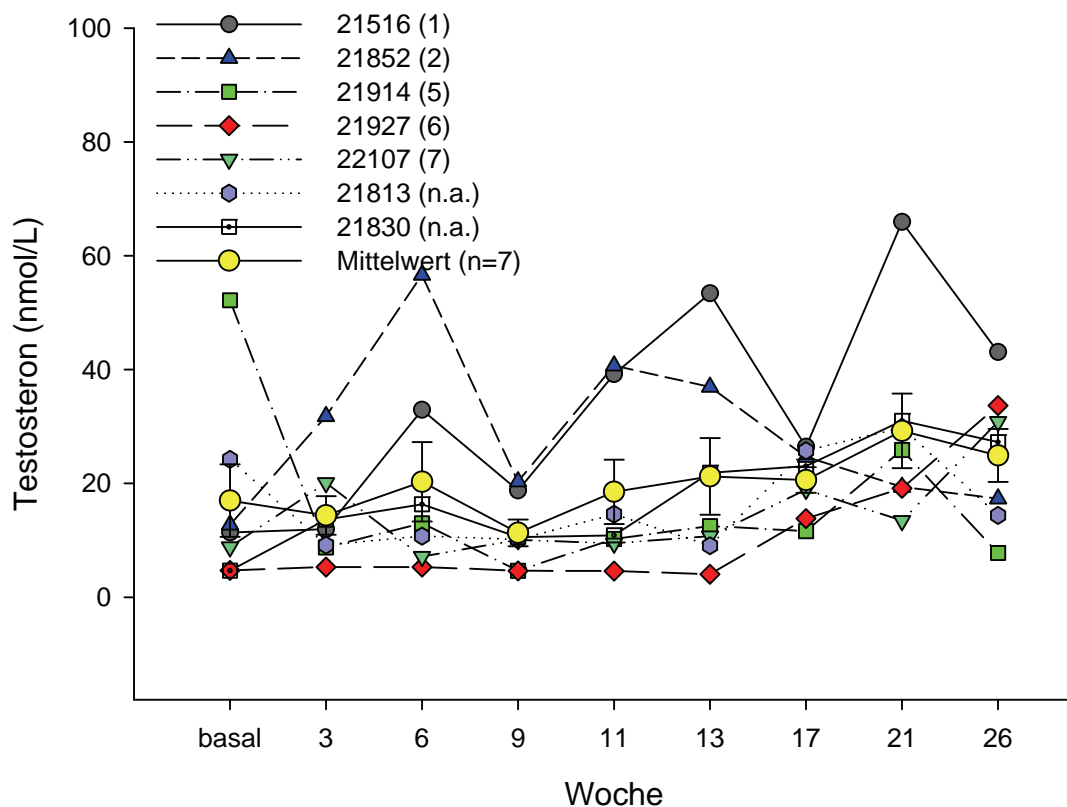


Abbildung 18: Individuelle Testosteron Werte (nmol/L) von Tieren der Gruppe 1, Mittelwerte (gelb) mit Standardfehler.

#### **4.7 Männliche Tiere der Gruppe 1a und 1b**

Die Tiere der Untergruppen 1a und 1b setzten sich aus zwei hochrangigen und zwei Tieren unklaren Ranges (1a) und Tieren niederen Ranges (1b) zusammen, die alle schon im Vorfeld als soziale Gruppe (Gruppe 1) über 26 Wochen beobachtet wurden. Hier galt es, die mit Hilfe der Untersuchung der Gruppe 1 Tiere ermittelten Befunde zu bestätigen. Besonders interessant war hier nun die Frage, ob der soziale Rang eine Rolle dabei spielt, und ob die Änderungen eventuell mit der Gruppengröße korrelieren.

##### **4.7.1 Körpergewicht**

Auch die Körpergewichte der Tiere aus den Untergruppen 1a und 1b stagnieren bzw. nehmen in den ersten Wochen nach der Gruppen (neu) formierung ab (Abbildung 19a und 19b). Doch auch hier zeigt sich im späteren Verlauf eine Zunahme im Körpergewicht. In beiden Gruppen – der mit den hochrangigen Tieren (1a) und der Gruppe mit den Tieren niederen Ranges (1b) – haben alle Tiere unabhängig von dem Rang innerhalb der Gruppe weiterhin zugenommen. Über den gesamten Beobachtungszeitraum von 52 Wochen konnte Körpergewichtszunahmen von bis zu 27 % verzeichnet werden (Abbildung 20a/b), was sich mit den ausgewerteten Daten des Referenzkollektives deckt (Abbildung 20a/b, Tabelle 9).

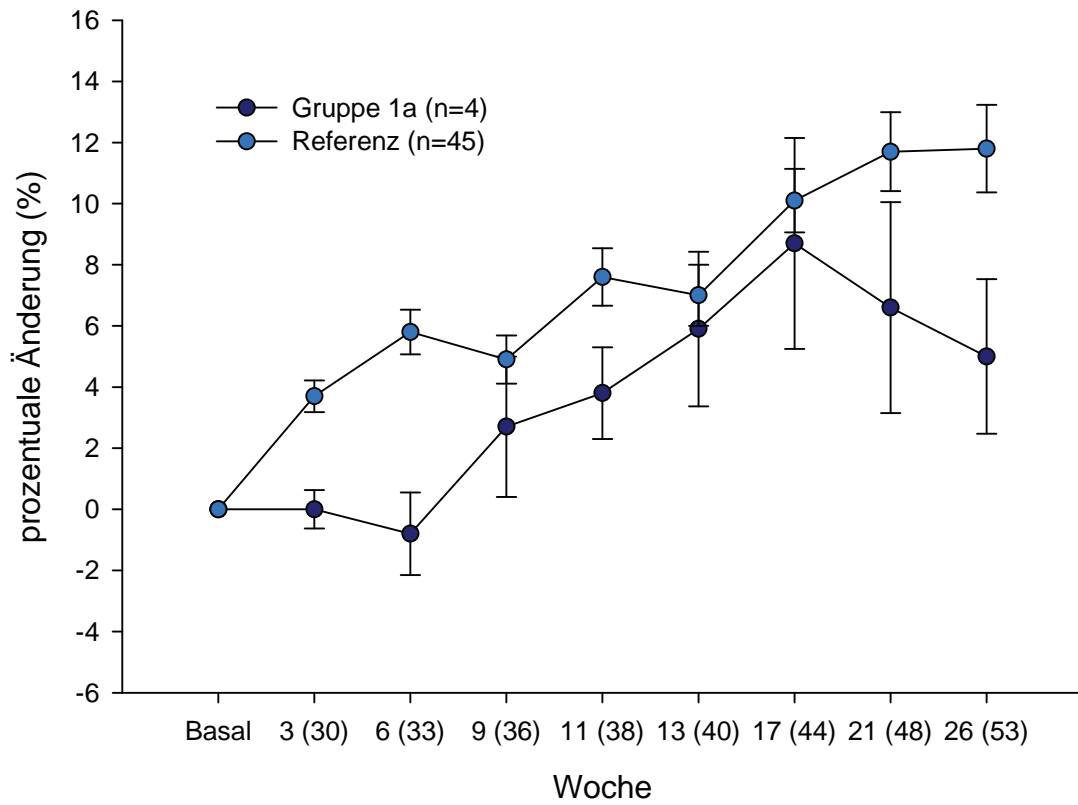


Abbildung 19a: Mittlere prozentuale Änderungen im Körpergewicht bei den Tieren der Gruppe 1a über den gesamten Beobachtungszeitraum von 26 Wochen, im Vergleich zu dem Referenzkollektiv.



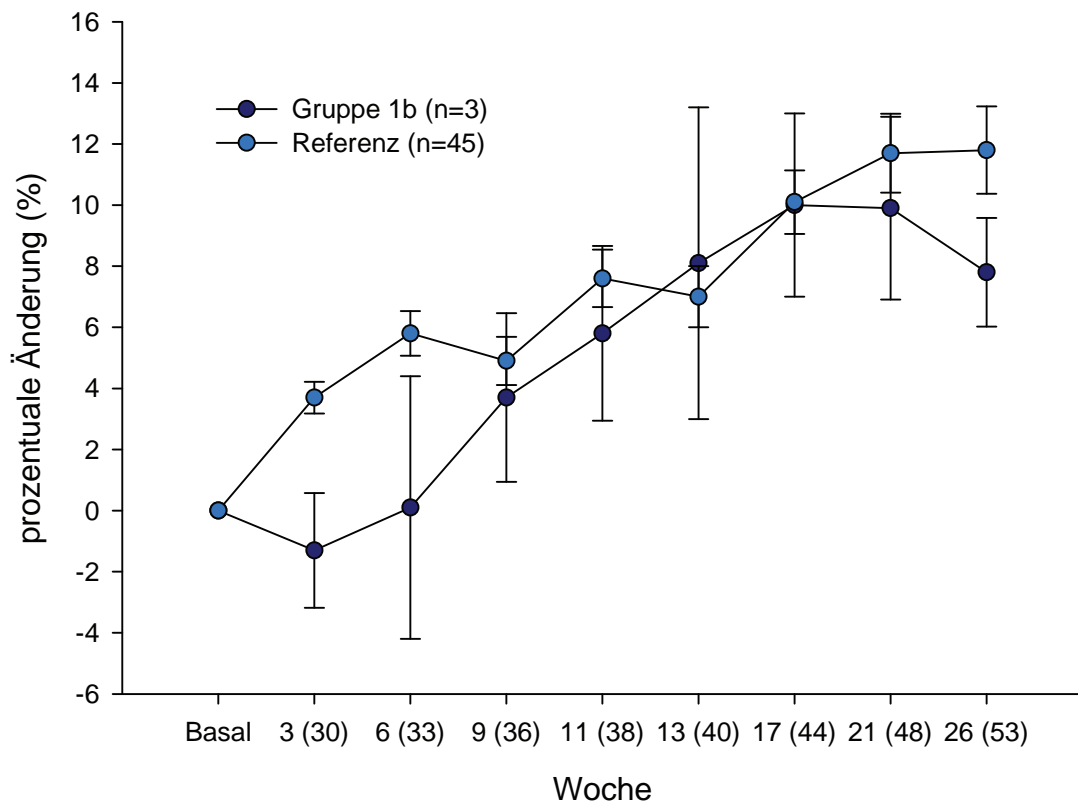


Abbildung 19b: Mittlere prozentuale Änderungen im Körpergewicht bei den Tieren der Gruppe 1b über den gesamten Beobachtungszeitraum von 26 Wochen, im Vergleich zu dem Referenzkollektiv.

Tabelle 9: Körpergewichte der hochrangigen männlichen Tiere aus Gruppe 1a und Tieren niederen Ranges aus 1b [Vierer- bzw. Dreiergruppe, in kg (oben) und % (unten)], mit dem Referenzkollektiv in der letzten Zeile.

Tier-nummer	Gruppe	Basal (28)	Woche 3 (30)	Woche 6 (33)	Woche 9 (36)	Woche 11 (38)	Woche 13 (40)	Woche 17 (44)	Woche 21 (48)	Woche 26 (53)
Körpergewicht (kg)										
21516 (1)	1a	6.6	6.7	6.7	6.6	6.6	6.6	6.8	6.7	6.9
21813 (n.a.)	1a	5.9	5.8	5.9	6.1	6.2	6.2	6.1	5.9	6.0
21830 (n.a.)	1a	6.4	6.4	6.1	6.3	6.6	6.8	7.1	7.1	6.5
21852 (2)	1a	5.7	5.7	5.7	6.2	6.1	6.4	6.7	6.5	6.4
MW		6.2	6.2	6.1	6.3	6.4	6.5	6.7	6.6	6.5
Referenz		4.5	4.7	4.8	4.7	4.9	4.8	5.0	5.0	5.0
21914 (5)	1b	5.0	4.9	5.0	5.1	5.2	5.2	5.3	5.2	5.3
21927 (6)	1b	4.4	4.5	4.6	4.8	4.9	5.2	5.1	5.0	4.9
22107 (7)	1b	4.9	4.7	4.7	4.9	5.0	5.0	5.3	5.5	5.2
MW		4.8	4.7	4.8	4.9	5.0	5.1	5.2	5.2	5.1
Referenz		4.5	4.7	4.8	4.7	4.9	4.8	5.0	5.0	5.0
prozentuale Änderung (%)										
21516 (1)	1a	0.0	1.5	1.5	0.0	0.0	0.0	3.0	1.5	4.5
21813 (n.a.)	1a	0.0	-1.6	0.0	3.4	5.1	5.1	3.4	0.0	1.6
21830 (n.a.)	1a	0.0	0.0	-4.7	-1.6	3.1	6.3	10.9	10.9	1.6
21852 (2)	1a	0.0	0.0	0.0	8.8	7.0	12.3	17.5	14.0	12.3
MW		0.0	0.0	-0.8	2.7	3.8	5.9	8.7	6.6	5.0
Referenz		0.0	3.7	5.8	4.9	7.6	7.0	10.1	11.7	11.8
21914 (5)	1b	0.0	-2.0	0.0	2.0	4.0	4.0	6.0	4.0	6.0
21927 (6)	1b	0.0	2.3	4.5	9.1	11.4	18.2	15.9	13.6	11.4
22107 (7)	1b	0.0	-4.1	-4.1	0.0	2.0	2.0	8.2	12.2	6.1
MW		0.0	-1.3	0.1	3.7	5.8	8.1	10.0	9.9	7.8
Referenz		0.0	3.7	5.8	4.9	7.6	7.0	10.1	11.7	11.8
prozentuale Änderung zum Basalwert aus Gruppe 1 (%)										
21516 (1)	1a	4.8	6.3	6.3	4.8	4.8	4.8	7.9	6.3	9.5
21813 (n.a.)	1a	11.3	9.4	11.3	15.1	17.0	17.0	15.1	11.3	13.2
21830 (n.a.)	1a	25.5	25.5	19.6	23.5	29.4	33.3	39.1	39.1	27.5
21852 (2)	1a	5.6	5.6	5.6	14.8	13.0	18.2	24.0	20.2	18.3
MW		11.8	11.7	10.7	14.6	16.1	18.4	21.6	19.3	17.2
Referenz		11.8	15.5	17.7	19.1	19.5	20.0	23.3	25.2	26.1
21914 (5)	1b	11.1	8.9	11.1	13.3	15.6	15.6	17.8	15.6	17.8
21927 (6)	1b	4.8	7.1	9.5	14.3	17.1	24.0	22.2	19.1	17.2
22107 (7)	1b	19.5	14.6	14.6	19.5	22.0	22.0	29.3	34.1	27.2
MW		11.8	10.2	11.7	16.2	18.1	20.5	23.2	22.9	20.4
Referenz		11.8	15.5	17.7	19.1	19.5	20.0	23.3	25.2	26.1

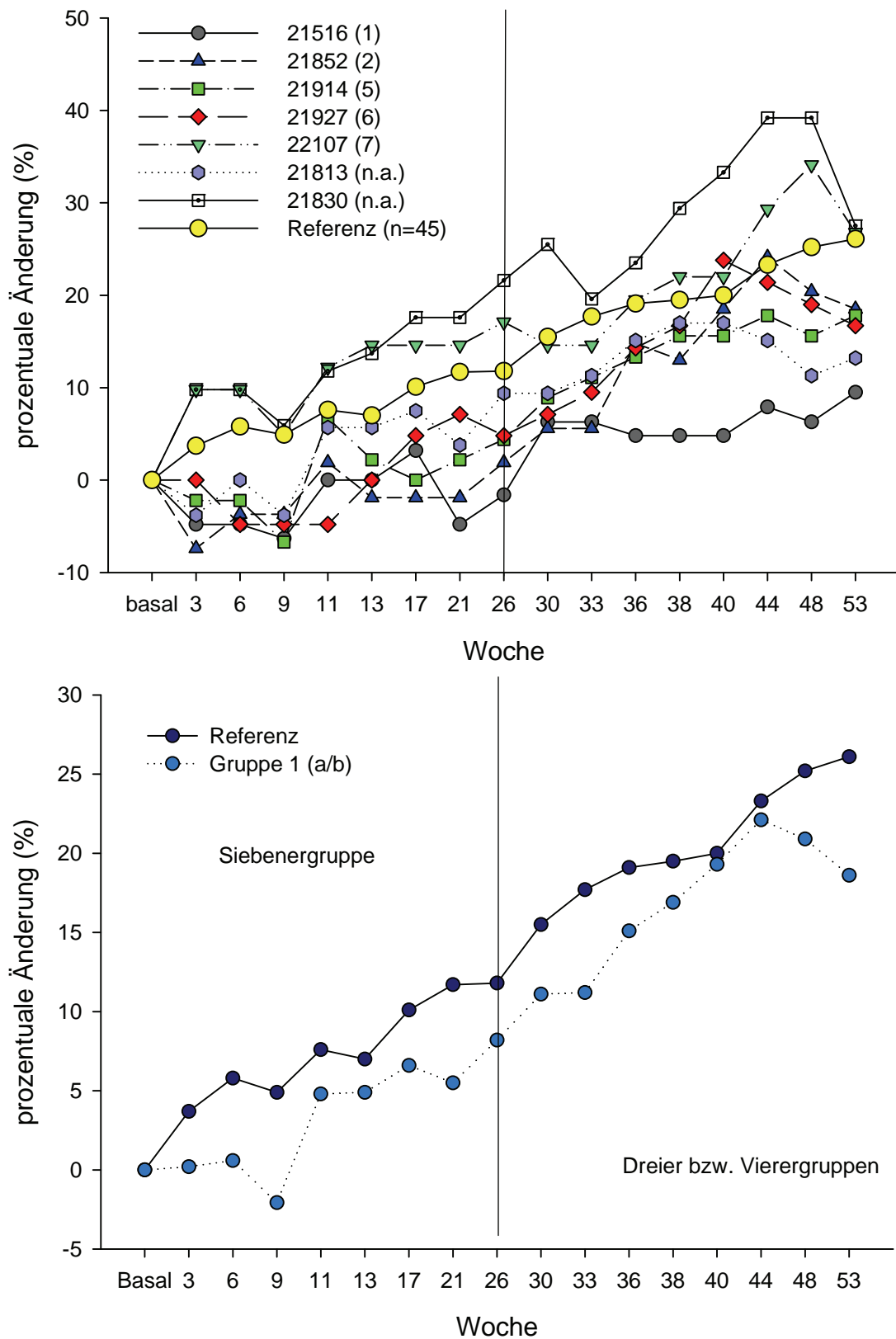


Abbildung 20a/b: Mittlere prozentuale Änderungen (unten) und die individuelle prozentuale Änderung (oben) im Körpergewicht bei den Tieren der Gruppe 1 bzw. 1a und 1b über den gesamten Beobachtungszeitraum von 26 Wochen (Siebenergruppe) bzw. 52 Wochen (Dreier und Vierergruppen), im Vergleich zu dem Referenzkollektiv.

#### 4.7.2 Hodenvolumen

Es zeigte sich, dass bei den Tieren der Gruppe 1a, die sich aus 2 hochrangigen Tieren (21516, 21852) und zwei Tieren unklaren Ranges (21813, 21830) zusammensetzte, wieder kurz nach der Gruppenneueformierung zu einer deutlichen Abnahme im Hodenvolumen kommt. Innerhalb dieser Gruppe haben bis zur Woche 9 drei (21516, 21813, 21830) der vier Tiere deutlich an Hodenvolumen verloren (20 – 40 %). Dabei war in dieser Gruppe auch das ranghöchste Tier betroffen. Aber auch hier erreichten fast alle Tiere nach 26 Wochen wieder ihren Ausgangswert (Abbildung 21a, Tabelle 10). Der in der Gruppe 1 festgelegte soziale Rang, blieb innerhalb der Gruppe unverändert.

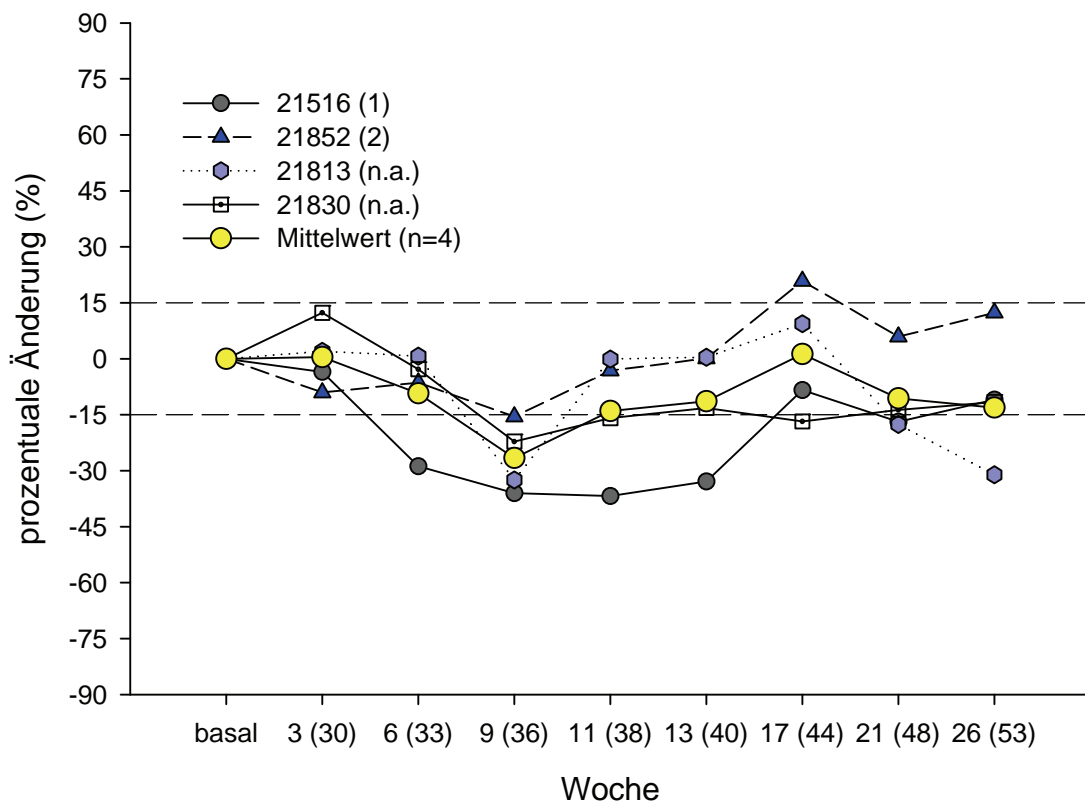


Abbildung 21a: Prozentuale Änderungen im Hodenvolumen bei den hochrangigen Tieren der Gruppe 1a (Vierergruppe) über 26 Wochen nach Gruppenneueformation. Die gestrichelte Linie beschreibt den normalen Variationskoeffizienten von  $\pm 15\%$ . Die Zahlen in Klammern auf der x-Achse beziehen sich auf den Start der ursprünglichen Gruppenbildung, die Zahlen in Klammern hinter der Tiernummer beschreiben den sozialen Rang innerhalb der Gruppe.

Für die Gruppe 1b verhält es sich hingegen genau Gegenteilig. Hier haben alle Tiere anfänglich an Hodenvolumen zugenommen (Abbildung 21b, Tabelle 10), danach stellte sich wieder ein deutlicher Rückgang der Hodenvolumina ein.

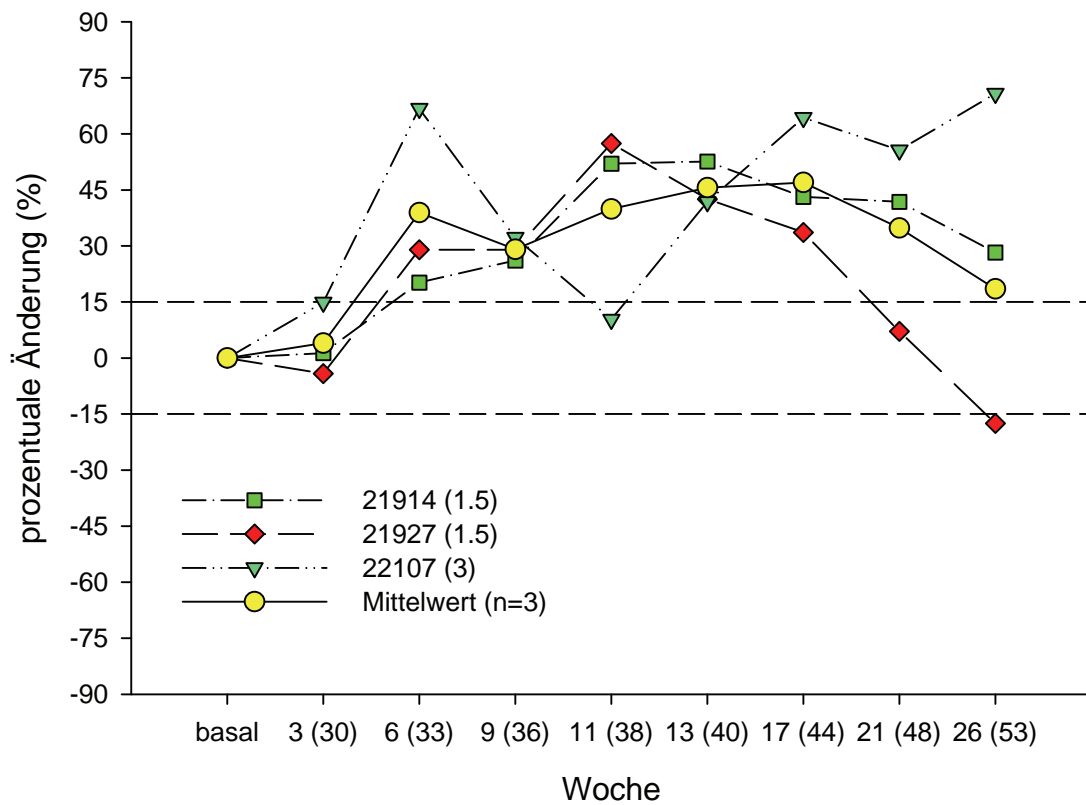


Abbildung 21b: Prozentuale Änderungen im Hodenvolumen bei den hochrangigen Tieren der Gruppe 1b (Dreiergruppe) über 26 Wochen nach Gruppenneueformation. Die gestrichelte Linie beschreibt den normalen Variationskoeffizienten von  $\pm 15\%$ . Die Zahlen in Klammern auf der x-Achse beziehen sich auf den Start der ursprünglichen Gruppenbildung, die Zahlen in Klammern hinter der Tiernummer beschreiben den sozialen Rang innerhalb der Gruppe.

Tabelle 10: Hodenvolumina der hochrangigen männlichen Tiere aus Gruppe 1a und Tieren niederen Ranges aus 1b [Vierer- bzw. Dreiergruppe, in mL (oben) und % (unten)].

Tier-nummer	Gruppe	Baseline (28)	Woche 3 (30)	Woche 6 (33)	Woche 9 (36)	Woche 11 (38)	Woche 13 (40)	Woche 17 (44)	Woche 21 (48)	Woche 26 (53)
Hodenvolumen (mL)										
21516 (1)	1a	27.6	26.6	19.6	17.6	17.4	18.5	25.2	22.9	24.5
21813 (n.a.)	1a	14.6	14.9	14.7	9.9	14.6	14.7	16.0	12.0	10.1
21830 (n.a.)	1a	24.9	27.9	24.2	19.4	20.9	21.6	20.7	21.5	22.0
21852 (2)	1a	19.3	17.5	18.0	16.3	18.6	19.3	23.3	20.4	21.6
MW		21.6	21.7	19.1	15.8	17.9	18.5	21.3	19.2	19.5
21914 (5)	1b	8.9	9.0	10.7	11.2	13.5	13.6	12.7	12.6	11.4
21927 (6)	1b	14.3	13.7	18.5	18.5	22.5	20.4	19.1	15.3	11.8
22107 (7)	1b	11.7	13.4	19.5	15.4	12.9	16.6	19.2	18.2	20.0
MW		11.6	12.1	16.2	15.1	16.3	16.9	17	15.4	14.4
prozentuale Änderung (%)										
21516 (1)	1a	0.0	-3.6	-29.0	-36.2	-37.0	-33.0	-8.7	-17.0	-11.2
21813 (n.a.)	1a	0.0	2.1	0.7	-32.2	0.0	0.7	9.6	-17.8	-30.8
21830 (n.a.)	1a	0.0	12.0	-2.8	-22.1	-16.1	-13.3	-16.9	-13.7	-11.6
21852 (2)	1a	0.0	-9.3	-6.7	-15.5	-3.6	0.0	20.7	5.7	11.9
MW		0.0	0.3	-9.5	-26.5	-14.2	-11.4	1.2	-10.7	-10.4
21914 (5)	1b	0.0	1.1	18.9	4.7	20.5	0.7	-6.6	-0.8	-9.5
21927 (6)	1b	0.0	-4.2	35.0	0.0	21.6	-9.3	-6.4	-19.9	-22.9
22107 (7)	1b	0.0	14.5	45.5	-21.0	-16.2	28.7	15.7	-5.2	9.9
MW		3.8	33.1	-5.5	8.6	6.7	0.9	-8.6	-7.5	3.8
prozentuale Änderung zum Basalwert aus Gruppe 1 (%)										
21516 (1)	1a	8.2	4.3	-23.1	-31.0	-31.8	-27.5	-1.2	-10.2	-3.9
21813 (n.a.)	1a	57.0	60.2	58.1	6.5	57.0	58.1	72.0	29.0	8.6
21830 (n.a.)	1a	32.4	48.4	28.7	3.2	11.2	14.9	10.1	14.4	17.0
21852 (2)	1a	-1.5	-10.7	-8.2	-16.8	-5.1	-1.5	18.9	4.1	10.2
MW		24.0	25.6	13.9	-9.5	7.8	11.0	25.0	9.3	8.0
21914 (5)	1b	-11.9	-10.9	5.9	10.9	33.7	34.7	25.7	24.8	12.9
21927 (6)	1b	57.1	50.5	103.3	103.3	147.3	124.2	109.9	68.1	29.7
22107 (7)	1b	-15.8	-3.6	40.3	10.8	-7.2	19.4	38.1	30.9	43.9
MW		9.8	12.0	49.8	41.7	57.9	59.4	57.9	41.3	28.8

#### **4.7.3 FSH**

Die FSH Spiegel bleiben über den Verlauf der Beobachtungsphase in allen Tieren der Gruppen 1a und 1b stabil. Generell kann festgehalten werden, dass in den Gruppen 1a und 1b die FSH Spiegel deutlich geringer waren (viele Werte waren unterhalb der Nachweisgrenze) als zuvor in der Gruppe 1. Aufgrund der geringen Anzahl der valide gemessenen Proben, ist eine Aussage über einen systemischen Effekt an dieser Stelle leider nicht möglich (Tabelle 11).

Tabelle 11: FSH Spiegel der hochrangigen männlichen Tiere aus Gruppe 1a und Tieren niederen Ranges aus 1b [Vierer- bzw. Dreiergruppe, in ng/mL (oben) und % (unten)].

Tier-nummer	Gruppe	Baseline (28)	Woche 3 (30)	Woche 6 (33)	Woche 9 (36)	Woche 11 (38)	Woche 13 (40)	Woche 17 (44)	Woche 21 (48)	Woche 26 (53)
FSH (ng/mL)										
21516 (1)	1a	0.495	0.142	-	0.326	0.120	0.188	0.812	0.636	0.554
21813 (n.a.)	1a	0.342	0.305	0.175	0.231	0.374	0.223	0.302	0.308	0.786
21830 (n.a.)	1a	2.144	1.820	2.523	2.470	2.242	1.862	1.852	1.573	1.207
21852 (2)	1a	0.200	0.053	0.271	-	0.119	0.075	0.373	0.406	0.168
MW		0.994	1.820	0.990	2.470	1.308	1.862	1.012	0.731	0.849
21914 (5)	1b	0.737	0.585	1.042	0.808	0.675	0.656	0.613	1.133	0.787
21927 (6)	1b	0.545	0.235	0.295	0.440	0.799	0.226	0.533	0.441	0.275
22107 (7)	1b	0.168	0.093	-	-	-	0.140	0.365	0.603	0.489
MW		0.641	0.585	1.042	0.624	0.737	0.656	0.504	0.726	0.638
prozentuale Änderung (%)										
21516 (1)	1a	0.0	-71	-	-34	-76	-62	64	28	12
21813 (n.a.)	1a	0.0	-11	-49	-32	9	-35	-12	-10	130
21830 (n.a.)	1a	0.0	-15	18	15	5	-13	-14	-27	-44
21852 (2)	1a	0.0	-74	36	-	-41	-63	87	103	-16
MW		0.0	-42.7	1.4	-17.1	-25.6	-43.1	31.3	23.7	20.5
21914 (5)	1b	0.0	-21	41	10	-8	-11	-17	54	7
21927 (6)	1b	0.0	-57	-46	-19	47	-59	-2	-19	-50
22107 (7)	1b	0.0	-45	-	-	-	-17	117	259	191
MW		0.0	-40.7	-2.2	-4.8	19.1	-28.7	32.7	97.9	49.4
prozentuale Änderung zum Basalwert aus Gruppe 1 (%)										
21516 (1)	1a	-27	-79	-	-52	-82	-72	20	-6	-18
21813 (n.a.)	1a	-52	-57	-76	-68	-48	-69	-58	-57	10
21830 (n.a.)	1a	387	314	473	461	410	323	321	258	174
21852 (2)	1a	-64	-91	-52	-100	-79	-87	-34	-28	-70
MW		61.0	21.7	115.4	60.5	50.2	23.9	62.4	41.7	24.0
21914 (5)	1b	11	-12	56	21	1	-2	-8	70	18
21927 (6)	1b	-54	-80	-75	-63	-32	-81	-55	-63	-77
22107 (7)	1b	-64	-80	-	-	-	-70	-22	29	5
MW		-35.7	-57.4	-9.3	-20.7	-15.4	-50.8	-28.1	12.3	-17.9



#### **4.7.4 Inhibin-B**

Auch die Inhibin-B Werte der Tiere aus den Gruppen 1a bis 1b zeigen keinerlei Tendenz in den untersuchten Zeiträumen. In den ersten 26 Wochen der Beobachtung schwanken die Werte sehr stark, wobei in den folgenden 26 Wochen auffällt, dass die Werte deutlich enger beieinander liegen (Tabelle 12).

Tabelle 12: Inhibin-B Spiegel der hochrangigen männlichen Tiere aus Gruppe 1a und Tieren niederen Ranges aus 1b [Vierer- bzw. Dreiergruppe, in pg/mL (oben) und % (unten)].

Tier-nummer	Gruppe	Baseline (28)	Woche 3 (30)	Woche 6 (33)	Woche 9 (36)	Woche 11 (38)	Woche 13 (40)	Woche 17 (44)	Woche 21 (48)	Woche 26 (53)
Inhibin-B (pg/mL)										
21516 (1)	1a	1149	927	1009	921	1078	859	936	923	1194
21813 (n.a.)	1a	781	885	610	842	747	615	614	604	555
21830 (n.a.)	1a	1083	901	1035	765	918	501	882	807	835
21852 (2)	1a	943	964	888	1211	1006	959	966	986	1038
MW		989	919	886	935	937	734	850	830	906
21914 (5)	1b	736	878	1110	904	1117	807	812	862	940
21927 (6)	1b	685	1066	857	1137	979	619	678	725	772
22107 (7)	1b	742	736	708	927	856	813	777	914	865
MW		777	911	891	1045	990	800	808	872	904
prozentuale Änderung (%)										
21516 (1)	1a	0	-19	-12	-20	-6	-25	-19	-20	4
21813 (n.a.)	1a	0	13	-22	8	-4	-21	-21	-23	-29
21830 (n.a.)	1a	0	-17	-4	-29	-15	-54	-19	-25	-23
21852 (2)	1a	0	2	-6	28	7	2	2	5	10
MW		0	-5	-11	-3	-5	-25	-14	-16	-9
21914 (5)	1b	0	19	51	23	52	10	10	17	28
21927 (6)	1b	0	56	25	66	43	-10	-1	6	13
22107 (7)	1b	0	-1	-5	25	15	10	5	23	17
MW		0	19	16	36	29	3	4	13	17
prozentuale Änderung zum Basalwert aus Gruppe 1 (%)										
21516 (1)	1a	4	-16	-9	-17	-3	-22	-15	-17	8
21813 (n.a.)	1a	-1	12	-23	7	-5	-22	-22	-23	-30
21830 (n.a.)	1a	-25	-37	-28	-47	-36	-65	-39	-44	-42
21852 (2)	1a	-29	-27	-33	-8	-24	-27	-27	-25	-21
MW		-13	-17	-23	-16	-17	-34	-26	-27	-21
21914 (5)	1b	-29	-15	8	-12	8	-22	-21	-16	-9
21927 (6)	1b	56	142	95	158	123	41	54	65	75
22107 (7)	1b	5	4	0	31	21	15	10	29	22
MW		1	26	17	42	32	2	4	13	17

#### 4.7.5 Testosteron

Innerhalb der Gruppen 1a und 1b schwanken die Testosteronwerte sehr stark. Zu diesen Untersuchungen kann keine verlässliche Aussage zu etwaigen Effekten getroffen werden, da die Serummengen nicht ausreichten und somit nicht von allen Tieren zu allen Zeitpunkten das entsprechende Untersuchungsmaterial zur Verfügung stand. Der Vollständigkeit halber sind die Ergebnisse der Untersuchung in der Abbildung 22 dargestellt.

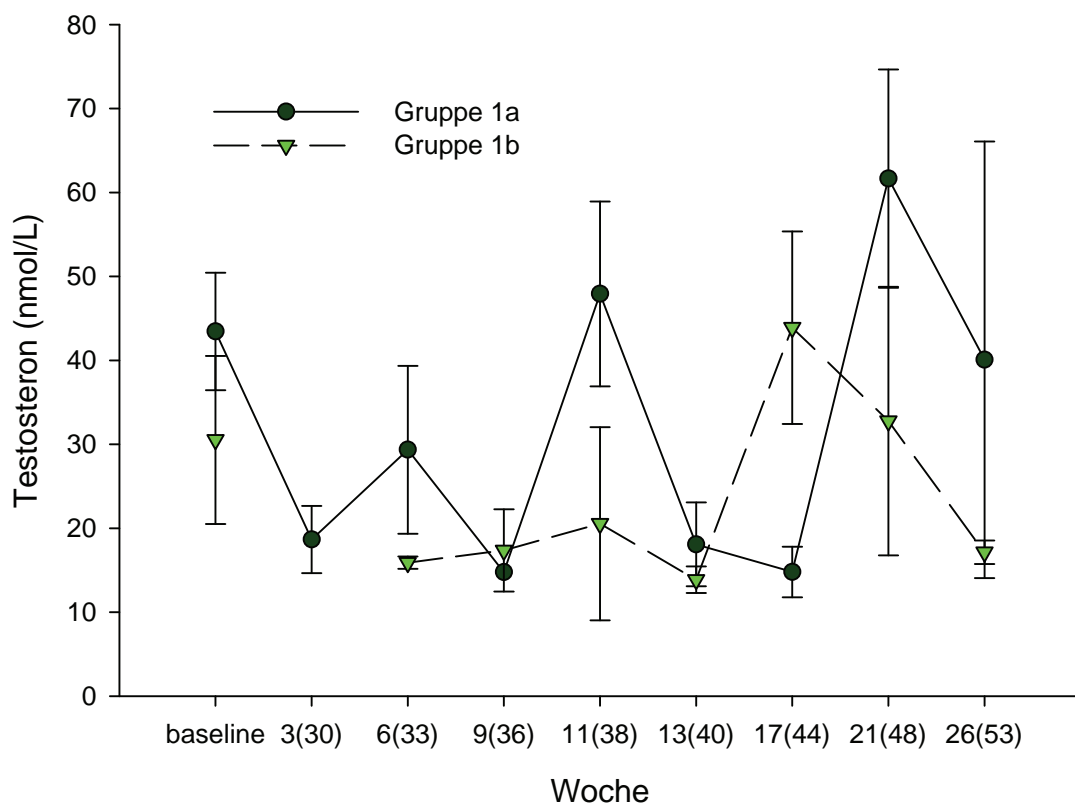


Abbildung 22: Mittlere Testosteronwerte von Tieren der Gruppen 1a und 1b. Gezeigt sind die Gruppenmittelwerte mit dem Standardfehler, wobei in einzelnen Wochen immer Proben fehlten und somit die Anzahl immer unterschiedlich ist.

#### **4.8 Männliche Tiere der Gruppe 2, 3 und 4**

Zusätzlich wurden noch drei weitere Gruppen (2 bis 4) beobachtet, die sich aus acht bis zehn geschlechtsreifen, männlichen Tieren zusammensetzten. Diese Tiere waren in kleineren Stallungen untergebracht (in-house, siehe 3.2.3) und hatten im Gegensatz zu den Tieren der Gruppe 1 schon vorher zumindest untereinander „Sichtkontakt“. Hier sollte also die Frage beantwortet werden, ob auch die Käfiggröße möglicherweise einen Einfluss auf toxikologische Fragestellungen nehmen kann und ob es einen Unterschied macht, dass die Tiere vorher schon untereinander in den gleichen Stallungen untergebracht waren.

##### **4.8.1 Körpergewicht**

Hier wurde es leider versäumt, ein Körpergewicht vor der Gruppenformation zu erheben, da die Tiere vor der Entscheidung diese Tiere mit zu beobachten schon zusammen in den Gruppen gewesen sind. Das erste dokumentierte Körpergewicht wurde 3 Wochen nach der Gruppenformation erhoben. Somit ist ein wirklicher Vergleich mit den vorher beschriebenen Gruppen nicht möglich. Innerhalb dieser Gruppen konnten lediglich sehr marginale Veränderungen im Körpergewicht beobachtet werden. Die Zunahmen im Körpergewicht bleiben hier in allen Gruppen – bis auf die Gruppe 4 – hinter den Zuwächsen des Referenzkollektives zurück. Insgesamt verhalten sich die Körpergewichte über den Verlauf der 13-wöchigen Beobachtungsphase aber in allen Gruppen stabil. (Abbildung 23, Tabelle 13).

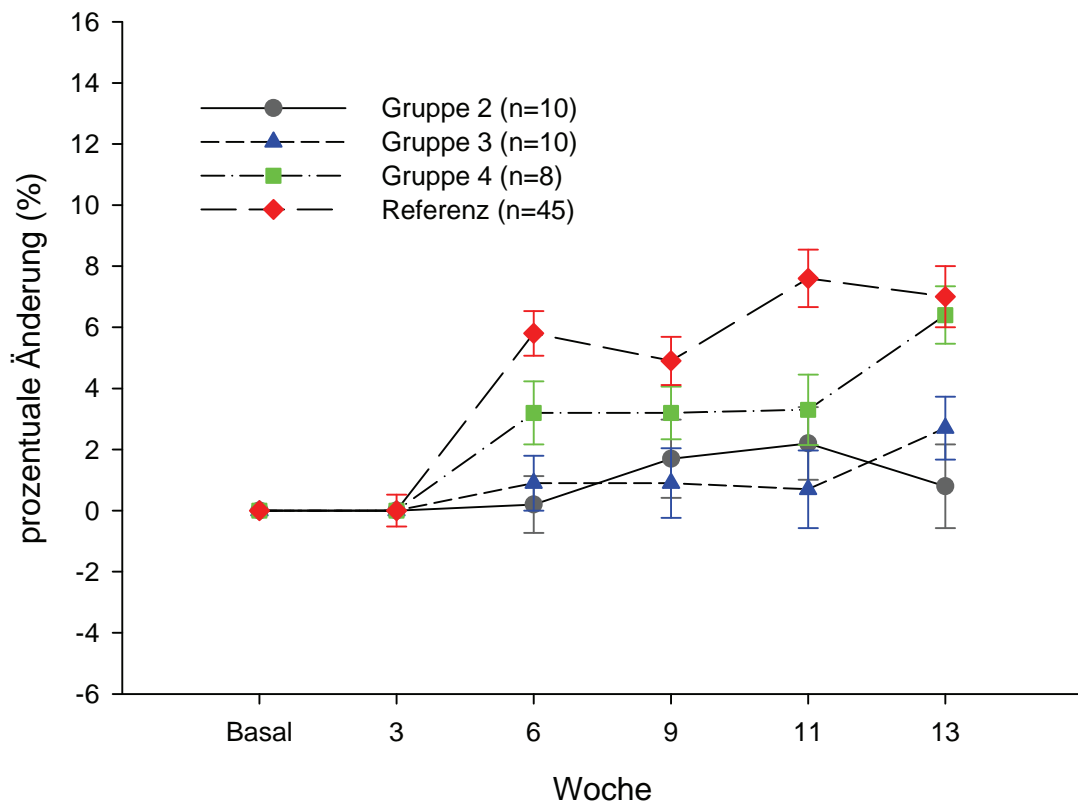


Abbildung 23: Mittlere prozentuale Änderung im Körpergewichte der Tiere aus Gruppe 2, 3 und 4 über 13 Wochen mit den entsprechenden Standardfehlern.

Tabelle 13: Körpergewichte der Tiere aus den Gruppen 2 bis 4 [Zehnergruppen, in kg (links) und % (rechts)], mit dem Referenzkollektiv in der letzten Zeile.

Tier nummer	Gr.	Bas- line	Wo. 3	Wo. 6	Wo. 9	Wo. 11	Wo. 13	Bas- line	Wo. 3	Wo. 6	Wo. 9	Wo. 11	Wo. 13
Körpergewicht (kg)								Prozentuale Änderung (%)					
22191	2	-	5.0	5.2	5.4	5.4	5.3	-	0.0	4.0	8.0	8.0	6.0
22192	2	-	6.0	5.9	6.1	6.2	5.8	-	0.0	-1.7	1.7	3.3	-3.3
22196	2	-	6.4	6.5	6.6	6.5	6.4	-	0.0	1.6	3.1	1.6	0.0
22202	2	-	5.6	5.5	5.7	5.7	6.0	-	0.0	-1.8	1.8	1.8	7.1
22203	2	-	6.1	6.3	5.9	5.9	6.0	-	0.0	3.3	-3.3	-3.3	-1.6
22206	2	-	6.2	5.9	6.0	6.2	6.0	-	0.0	-4.8	-3.2	0.0	-3.2
22213	2	-	7.1	7.2	7.2	7.3	7.2	-	0.0	1.4	1.4	2.8	1.4
22215	2	-	5.9	6.1	6.4	6.4	6.3	-	0.0	3.4	8.5	8.5	6.8
22223	2	-	10.2	10.0	10.1	10.0	9.8	-	0.0	-1.9	-0.9	-1.9	-3.9
22226	2	-	6.3	6.2	6.3	6.4	6.2	-	0.0	-1.6	0.0	1.6	-1.6
MW			6.5	6.5	6.6	6.6	6.5		0.0	0.2	1.7	2.2	0.8
Referenz		-	4.7	4.8	4.7	4.9	4.8	-	0.0	5.8	4.9	7.6	7.0
Körpergewicht (kg)								Prozentuale Änderung (%)					
22200	3	-	5.2	5.4	5.6	5.5	5.5	-	0.0	3.9	7.7	5.8	5.8
22204	3	-	7.2	7.1	7.3	7.3	7.5	-	0.0	-1.4	1.4	1.4	4.2
22205	3	-	5.6	5.7	5.7	5.8	5.8	-	0.0	1.8	1.8	3.6	3.6
22209	3	-	6.0	6.3	6.3	6.4	6.4	-	0.0	5.0	5.0	6.7	6.7
22210	3	-	5.7	5.5	5.6	5.5	5.7	-	0.0	-3.5	-1.8	-3.5	0.0
22218	3	-	5.4	5.6	5.4	5.4	5.6	-	0.0	3.7	0.0	0.0	3.7
22219	3	-	6.8	6.7	6.5	6.6	6.7	-	0.0	-1.5	-4.4	-2.9	-1.5
22221	3	-	7.0	6.9	6.8	6.6	6.8	-	0.0	-1.4	-2.9	-5.7	-2.8
22224	3	-	6.2	6.2	6.2	6.2	6.3	-	0.0	0.0	0.0	0.0	1.6
22228	3	-	5.1	5.2	5.2	5.2	5.4	-	0.0	2.0	2.0	2.0	5.9
MW			6.0	6.1	6.1	6.1	6.2		0.0	0.9	0.9	0.7	2.7
Referenz		-	4.7	4.8	4.7	4.9	4.8	-	0.0	5.8	4.9	7.6	7.0
Körpergewicht (kg)								Prozentuale Änderung (%)					
22189	4	-	5.8	6.0	5.9	6.0	6.1	-	0.0	3.4	1.7	3.5	5.2
22194	4	-	5.6	5.9	5.7	5.9	6.0	-	0.0	5.4	1.8	5.4	7.1
22198	4	-	6.2	6.2	6.3	6.3	6.5	-	0.0	0.0	1.6	1.6	4.8
22201	4	-	5.0	5.3	5.2	5.0	5.2	-	0.0	6.0	4.0	0.0	4.0
22211	4	-	5.2	5.5	5.6	5.6	5.8	-	0.0	5.8	7.7	7.7	11.5
22214	4	-	5.9	5.8	5.9	5.8	6.1	-	0.0	-1.7	0.0	-1.7	3.4
22217	4	-	5.9	6.0	6.1	6.1	6.3	-	0.0	1.7	3.4	3.4	6.8
22225	4	-	6.0	6.3	6.3	6.4	6.5	-	0.0	5.0	5.0	6.7	8.3
MW			5.7	5.9	5.9	5.9	6.1		0.0	3.2	3.2	3.3	6.4
Referenz		-	4.7	4.8	4.7	4.9	4.8	-	0.0	5.8	4.9	7.6	7.0

#### 4.8.2 Hodenvolumen

Auch die Hodenvolumina wurden, wie die Körpergewichte erst ab der Woche 3 nach Gruppenformierung erhoben, was einen Vergleich mit den anderen Gruppen erschwert. Es zeigte sich für alle Gruppen, dass die Hodenvolumina – im Gegensatz zu den Tieren der Gruppe 1 – über den Beobachtungszeitraum von 15 Wochen im Mittel nahezu unverändert blieben. In der Woche 15 ist dann in allen Gruppen eine leichte Reduktion festzustellen, die in der Gruppe 2, der Gruppe mit den anfänglich größten Hodenvolumina, besonders ausgeprägt ist (Abbildung 24, Tabelle 12). Allerdings ist es hier gut möglich, dass anfängliche Veränderungen nicht erfasst wurden.

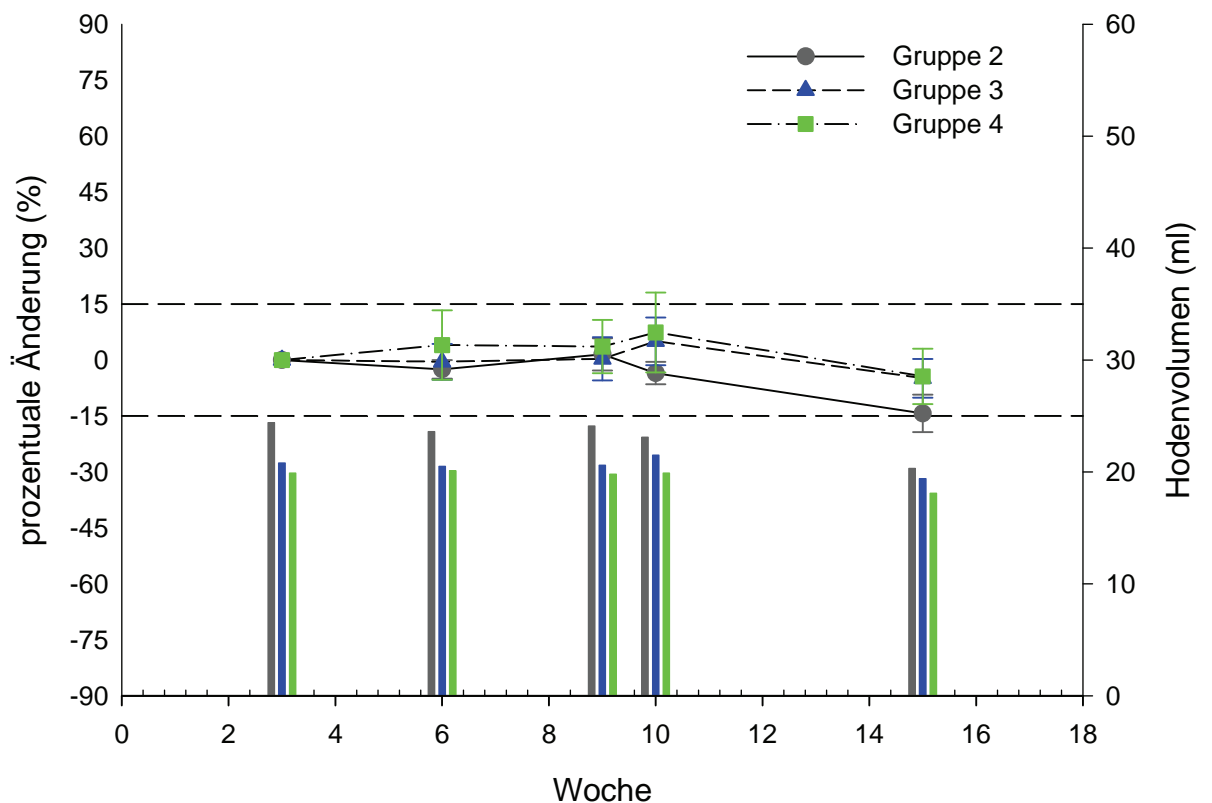


Abbildung 24: Mittlere Änderung im Hodenvolumen in mL (Dreieck) und % mit Standardfehler (Kreis) bei Tieren der Gruppe 2, 3 und 4 über den Verlauf der Beobachtungsphase.

Betrachtet man die individuellen Veränderungen, so zeigt sich für die Gruppe 2, dass hier drei von zehn Tieren ca. 30 % an Hodenvolumen verloren haben. Dabei verhalten sich die Volumina über die ersten Wochen in allen Tieren konstant, fallen dann in der Woche 15 aber bei drei Tieren (22223, 22192, 22226) ab (Abbildung 25). Bei zwei von den drei Tieren (22223 und 22226) handelt es sich wieder um Tiere mit den anfänglich größten Hodenvolumina.

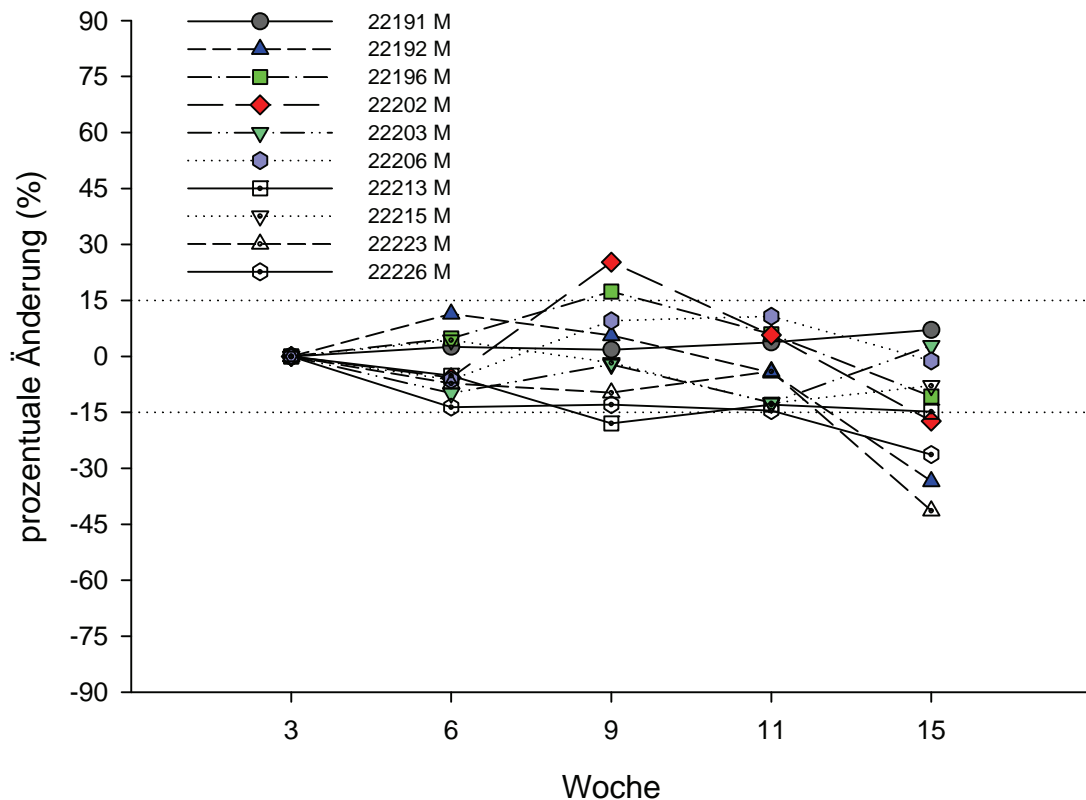


Abbildung 25: Individuelle prozentuale Änderung im Hodenvolumen bei Tieren (n=10) der Gruppe 2 über den Verlauf der Beobachtungsphase. Die gestrichelte Linie zeigt die normale Variation von  $\pm 15$  Prozent.



Dieser Effekt ist in den Gruppen 3 und 4 vergleichbar, wobei hier auch einzelne Tiere (22218, 22219 aus der Gruppe 3 und 22214 aus der Gruppe 4) etwas an Hodenvolumen zugelegt haben, dann aber wieder auf das Ausgangsniveau zurück gefallen sind. In der Gruppe 3 und 4 haben zwei (22200, 22228 Gruppe 3 und 22217, 22201 Gruppe 4) von acht bzw. zehn Tieren nach 15 Wochen zwischen 20 und 40 % an Hodenvolumen verloren. Insgesamt sind die Effekte innerhalb dieser Gruppen aber deutlich schwächer ausgeprägt, als in der eingangsbeschriebenen Gruppe 1, die sich auch aus sieben Tieren zusammensetzte. Eine Korrelation mit dem jeweiligen Rang kann hier nicht untersucht werden, da der individuelle Rang der Tiere innerhalb der Gruppen nicht bestimmt wurde (Abbildung 26a/b, Tabelle 14).

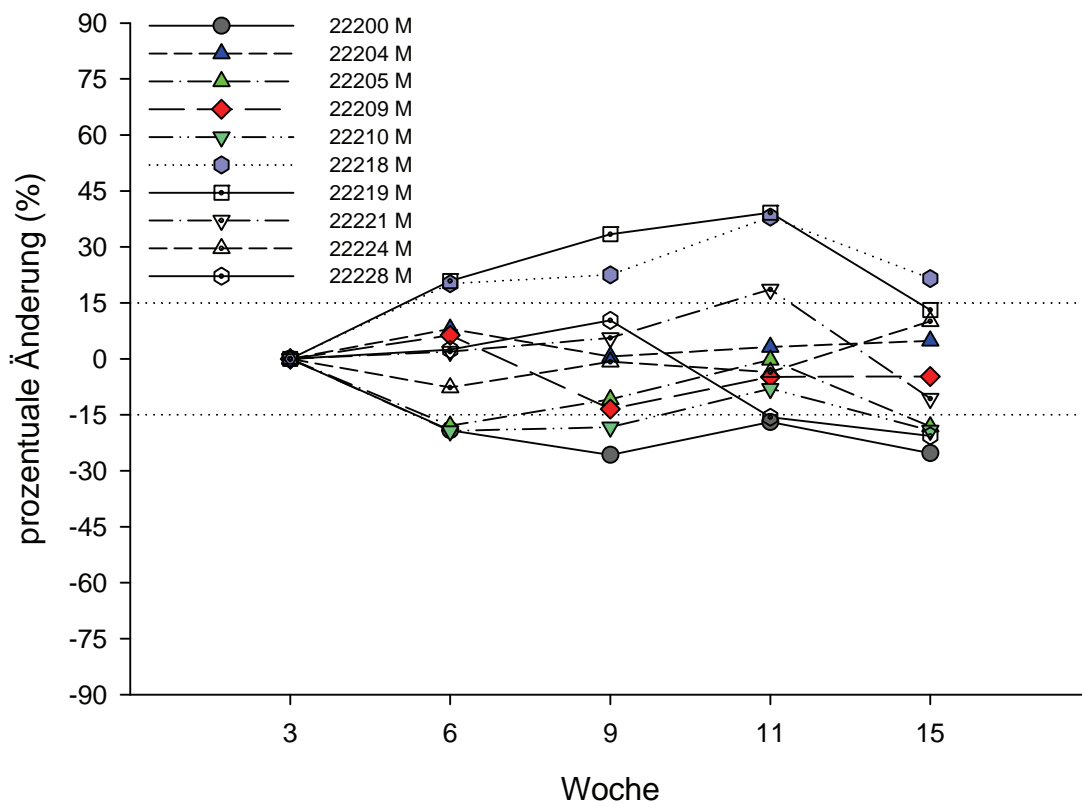


Abbildung 26a: Individuelle prozentuale Änderung im Hodenvolumen bei Tieren (n=10) der Gruppe 3 über den Verlauf der Beobachtungsphase. Die gestrichelte Linie zeigt die normale Variation von  $\pm 15$  Prozent.

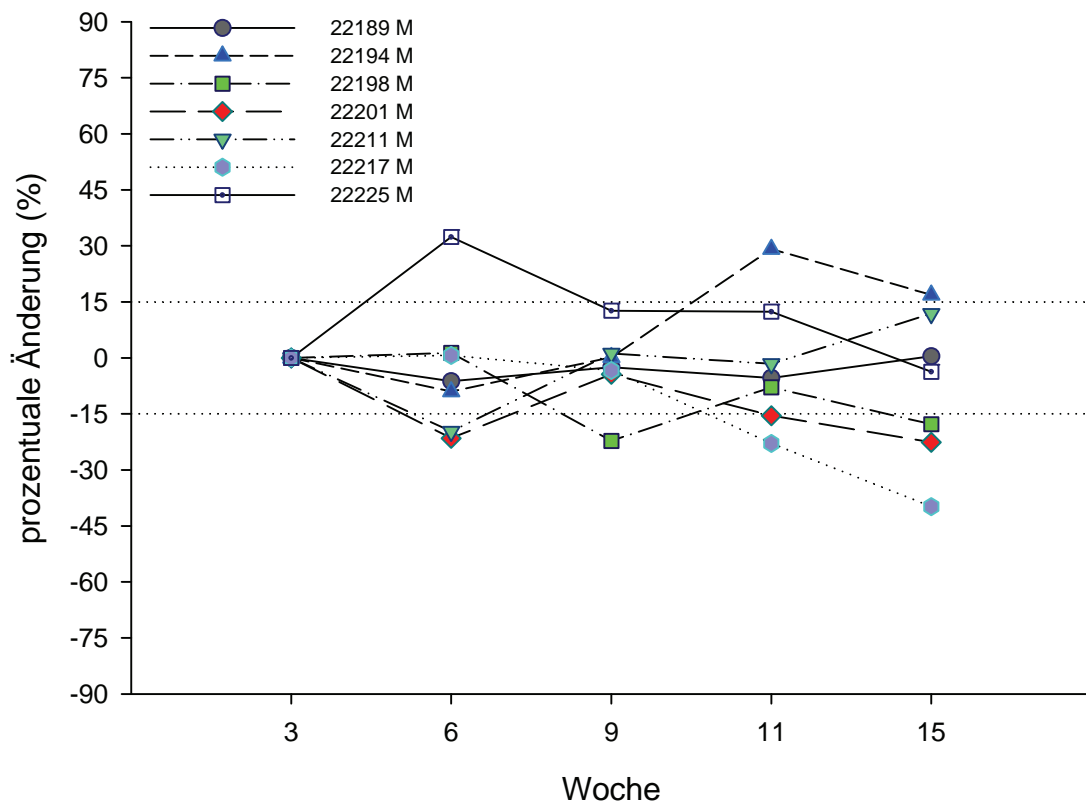


Abbildung 26b: Individuelle prozentuale Änderung im Hodenvolumen bei Tieren der Gruppe 4 oben (n=8) über den Verlauf der Beobachtungsphase. Die gestrichelte Linie zeigt die normale Variation von  $\pm 15$  Prozent). Das Tier 22214 ist auf dieser Abbildung nicht dargestellt.

Tabelle 14: Hodenvolumen der Tiere aus den Gruppen 2 bis 4 [Zehner bzw.- Achtergruppen, in mL (links) und Prozent (rechts)].

Tier- nummer	Gruppe	Woche 3	Woche 6	Woche 9	Woche 10	Woche 15	Woche 3	Woche 6	Woche 9	Woche 10	Woche 15
		Hodenvolumen (mL)					prozentuale Änderung (%)				
22191	2	15.8	16.3	16.1	16.4	16.9	0.0	2.5	1.7	3.7	7.0
22192	2	24.2	26.9	25.5	23.1	16.1	0.0	11.4	5.5	-4.3	-33.4
22196	2	26.5	27.7	31.1	28.0	23.6	0.0	4.8	17.3	5.9	-10.7
22202	2	10.6	10.1	13.3	11.3	8.8	0.0	-5.7	25.2	5.7	-17.3
22203	2	26.5	23.9	25.9	23.2	27.3	0.0	-9.9	-2.2	-12.4	2.8
22206	2	19.9	18.7	21.9	22.1	19.7	0.0	-6.2	9.5	10.7	-1.2
22213	2	27.9	26.4	22.9	24.3	23.7	0.0	-5.1	-17.9	-12.9	-14.8
22215	2	24.3	25.3	23.8	21.2	22.3	0.0	4.3	-1.7	-12.5	-7.9
22223	2	33.5	31.1	30.2	32.2	19.6	0.0	-7.2	-9.7	-4.0	-41.3
22226	2	34.3	29.6	29.9	29.3	25.3	0.0	-13.6	-12.9	-14.5	-26.3
MW		24.4	23.6	24.1	23.1	20.3	0	-2.5	1.5	-3.5	-14.3
22200	3	17.0	13.7	12.6	14.1	12.7	0.0	-19.1	-25.7	-16.9	-25.3
22204	3	23.9	25.9	24.1	24.7	25.1	0.0	8.0	0.5	3.1	4.8
22205	3	21.7	17.8	19.3	21.6	17.7	0.0	-17.9	-10.8	-0.2	-18.1
22209	3	20.8	22.1	17.9	19.8	19.8	0.0	6.3	-13.4	-4.8	-4.7
22210	3	25.9	20.9	21.2	23.9	20.9	0.0	-19.3	-18.3	-8.0	-19.2
22218	3	13.0	15.6	15.9	17.9	15.8	0.0	20.1	22.4	38.0	21.5
22219	3	17.3	20.9	23.1	24.1	19.6	0.0	20.8	33.4	39.1	13.1
22221	3	27.2	27.7	28.7	32.2	24.2	0.0	1.9	5.6	18.5	-10.6
22224	3	19.1	17.6	18.9	18.4	20.9	0.0	-7.7	-0.8	-3.5	10.0
22228	3	22.0	22.6	24.3	18.6	17.5	0.0	2.4	10.3	-15.6	-20.6
MW		20.8	20.5	20.6	21.5	19.4	0	-0.5	0.3	5.0	-4.9
22189	4	26.2	24.6	25.6	24.8	26.3	0.0	-6.2	-2.4	-5.3	0.4
22194	4	11.1	10.1	11.2	14.4	13.0	0.0	-9.0	0.1	29.1	16.8
22198	4	25.1	25.4	19.5	23.1	20.6	0.0	1.2	-22.2	-7.8	-17.7
22201	4	19.2	15.1	18.3	16.2	14.8	0.0	-21.5	-4.3	-15.4	-22.6
22211	4	18.8	15.1	19.0	18.5	21.0	0.0	-19.7	1.1	-1.6	11.7
22214	4	9.9	15.3	14.6	16.9	11.9	0.0	54.3	47.0	70.7	19.4
22217	4	27.1	27.3	26.2	20.9	16.3	0.0	0.6	-3.3	-22.9	-39.8
22225	4	21.4	28.3	24.1	24.1	20.6	0.0	32.3	12.6	12.3	-3.7
MW		19.9	20.1	19.8	19.9	18.1	0	4.0	3.6	7.4	-4.4

### 4.8.3 Testosteron

Bei den Tieren der Gruppen 2 bis 4 bleiben die Testosteron Werte über den Verlauf der Beobachtungsphase nahezu unverändert. Eine Beziehung zwischen dem sozialen Rang und der Höhe des Testosteronspiegels kann hier nicht getroffen werden, da der soziale Rang dieser Tiere nicht bestimmt wurde. Tendenziell ist eine leichte Abnahme im Testosteron in den Gruppenmittelwerte zu erkennen, die aber eher durch die starken Schwankungen innerhalb des Assays begründet sind (Abbildung 27).

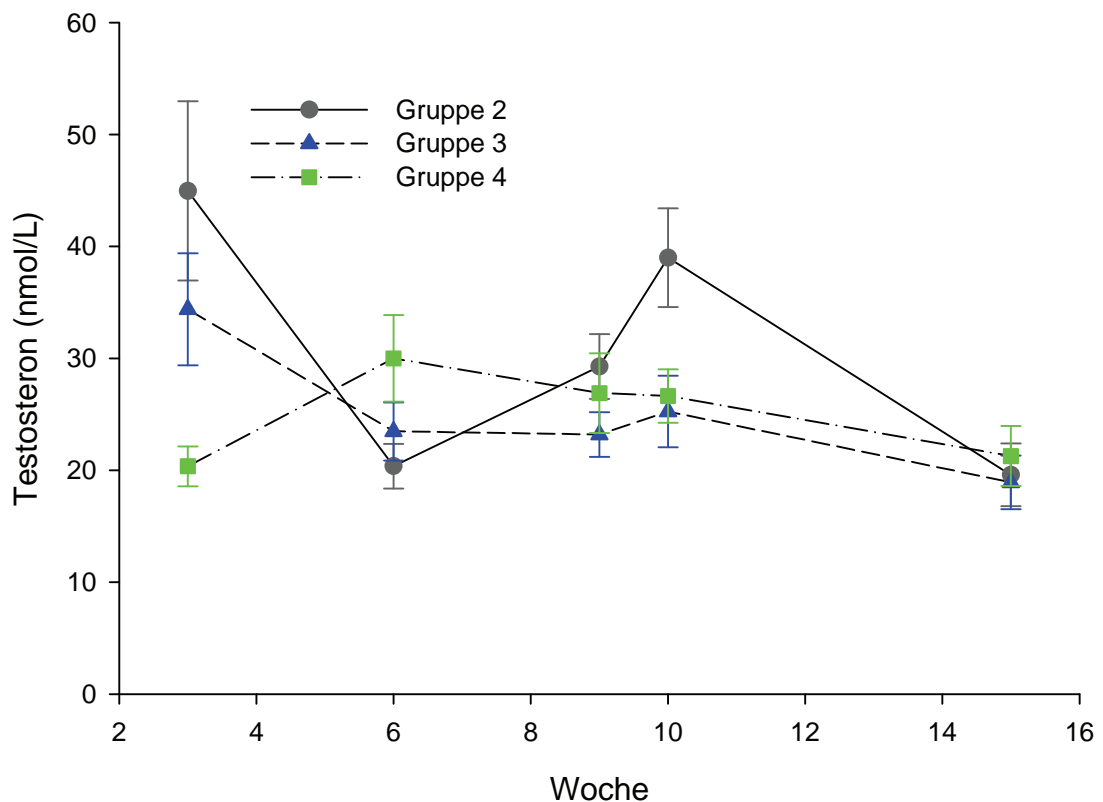


Abbildung 27: Mittlere Testosteronwerte von Tieren der Gruppen 2 bis 4. Dargestellt sind die Gruppenmittelwerte mit dem Standardfehler.

#### 4.9 Männliche Tiere der Untergruppen 2a bis 2c

Aus den Gruppen 2 bis 4 wurden nun erneut Tiere selektiert und in 3 neue kleinere Gruppen verbracht. Diese Gruppen setzten sich so zusammen, dass ranghohe Tiere aus unterschiedlichen Gruppen jeweils zu einer neuen, kleineren Gruppe formiert wurden (Gruppen 2a und 2b) und eine Gruppe mit rangniedrigen Tieren (Gruppe 2c) eine Gruppe bildete. Hier konnte verglichen werden, ob es innerhalb kleinerer Gruppen ebenfalls zu anfangs beschriebenen Effekten kommen kann.

##### 4.9.1 Körpergewicht

Die männlichen Tiere der Gruppen 2a bis 2c, die sich jeweils aus drei geschlechtsreifen Tieren zusammensetzten, nimmt das Körpergewicht – im Gegensatz zu den Tieren aus der Gruppe 1 – über den Verlauf der 26wöchigen Beobachtungsphase kontinuierlich zu. Hier ist auch anfangs kein Rückgang im Körpergewicht zu erkennen. Dabei bewegen sich die Zuwächse in allen Gruppen immer innerhalb der Zunahmen im Referenzkollektiv. Im Mittel zeigen alle Gruppen, wie auch die Tiere aus der Gruppe 1, über 26 Wochen eine ca. 15 % ige Körpergewichtszunahme (Abbildung 28, Tabelle 15).

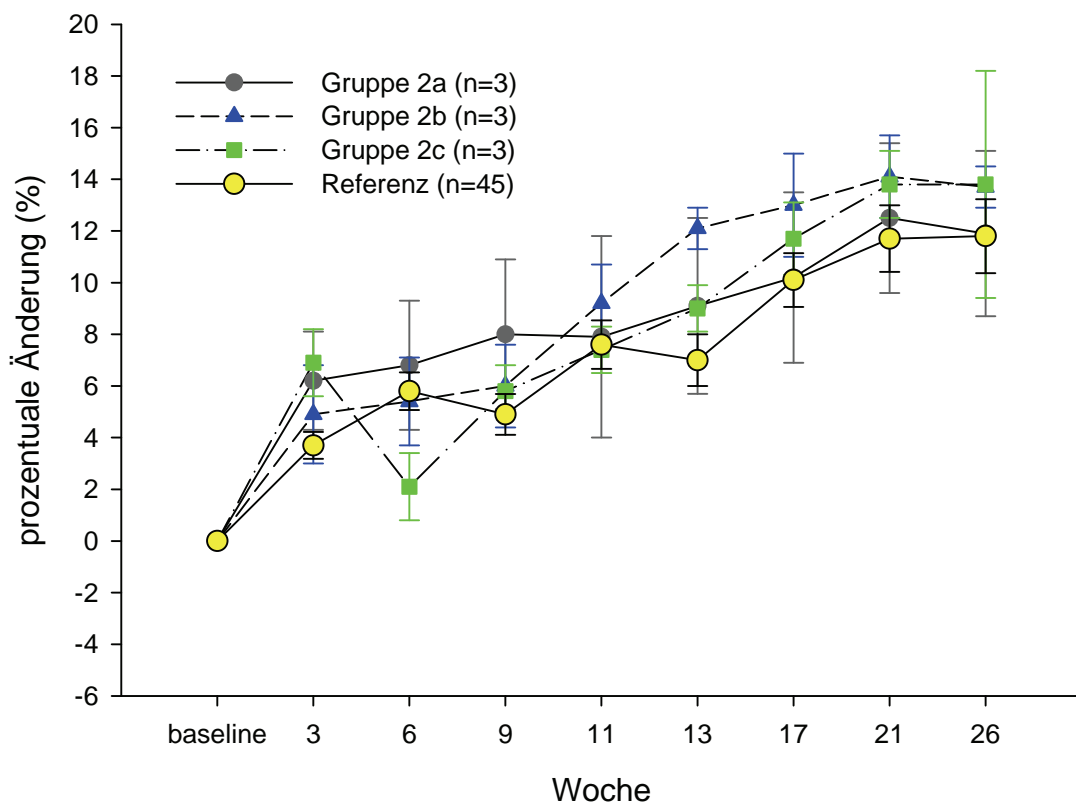


Abbildung 28: Mittlere prozentuale Änderungen (mit Standardfehler) im Körpergewicht bei den Tieren der Gruppe 2a bis 2c über 26 Wochen, im Vergleich zu dem Referenzkollektiv.

Tabelle 15: Körpergewichte der 7 Tiere aus den Gruppen 2a bis 2c [Dreiergruppen, in kg (oben) und % (unten)], mit dem Referenzkollektiv in der letzten Zeile.

Tier- nummer	Gruppe	Base- line	Woche 3	Woche 6	Woche 9	Woche 11	Woche 13	Woche 17	Woche 21	Woche 26
Körpergewicht (kg)										
22226	2a	6.0	6.6	6.7	6.8	6.9	6.9	7.0	7.1	7.1
22189	2a	5.9	6.2	6.1	6.1	6.0	6.1	6.3	6.5	6.4
22205	2a	5.6	5.8	5.9	6.0	6.0	6.1	6.0	6.1	6.1
MW		5.8	6.2	6.2	6.3	6.3	6.4	6.4	6.6	6.5
Referenz		4.5	4.7	4.8	4.7	4.9	4.8	5.0	5.0	5.0
22223	2b	9.3	10.1	10.1	10.1	10.3	10.4	10.8	10.8	10.7
22198	2b	6.4	6.6	6.6	6.8	6.8	7.1	7.0	7.1	7.2
22221	2b	6.6	6.8	6.9	6.8	7.3	7.5	7.5	7.6	7.5
MW		7.4	7.8	7.9	7.9	8.1	8.3	8.4	8.5	8.5
Referenz		4.5	4.7	4.8	4.7	4.9	4.8	5.0	5.0	5.0
22217	2c	6.2	6.6	6.2	6.5	6.6	6.7	7.1	7.2	7.6
22219	2c	6.5	7.1	6.8	7.0	7.1	7.2	7.2	7.4	7.2
22215	2c	6.1	6.4	6.2	6.4	6.5	6.6	6.7	6.8	6.6
MW		6.3	6.7	6.4	6.6	6.7	6.8	7.0	7.1	7.1
Referenz		4.5	4.7	4.8	4.7	4.9	4.8	5.0	5.0	5.0
prozentuale Änderung (%)										
22226	2a	0.0	10.0	11.7	13.3	15.0	15.0	16.7	18.3	18.3
22189	2a	0.0	5.1	3.4	3.4	1.7	3.4	6.8	10.2	8.5
22205	2a	0.0	3.6	5.4	7.1	7.1	8.9	7.1	8.9	8.9
MW		0.0	6.2	6.8	7.9	7.9	9.1	10.2	12.5	11.9
Referenz		0.0	3.7	5.8	4.9	7.6	7.0	10.1	11.7	11.8
22223	2b	0.0	8.6	8.6	8.6	10.8	11.8	16.1	16.1	15.1
22198	2b	0.0	3.1	3.1	6.3	6.3	10.9	9.4	10.9	12.5
22221	2b	0.0	3.0	4.5	3.0	10.6	13.6	13.6	15.2	13.6
MW		0.0	4.9	5.4	5.9	9.2	12.1	13.0	14.1	13.7
Referenz		0.0	3.7	5.8	4.9	7.6	7.0	10.1	11.7	11.8
22217	2c	0.0	6.5	0.0	4.8	6.5	8.1	14.5	16.1	22.6
22219	2c	0.0	9.2	4.6	7.7	9.2	10.8	10.8	13.8	10.8
22215	2c	0.0	4.9	1.6	4.9	6.6	8.2	9.8	11.5	8.2
MW		0.0	6.9	2.1	5.8	7.4	9.0	11.7	13.8	13.9
Referenz		0.0	3.7	5.8	4.9	7.6	7.0	10.1	11.7	11.8

#### 4.9.2 Hodenvolumen

Bei den Gruppen 2a bis 2c, die sich jeweils aus drei Tieren pro Gruppe zusammensetzten, wurden über den Verlauf von 26 Wochen lediglich marginale Veränderungen im Hodenvolumen gemessen. Aber auch innerhalb dieser Gruppen waren die Effekte initial am größten (Abbildung 29a) und nach Ablauf der 26 Wochen waren die Hodenvolumina im Mittel wieder nahe am Ausgangswert. Hier zeigte sich in jeder Gruppe jeweils ein Tier (22226 Gr. 2a; 22198 Gr. 2b; 22219 Gr. 2c) mit auffallend niedrigen Werten und deutlichen Abnahmen im Hodenvolumen (Abbildung 29b). Interessanterweise handelt es sich dabei in jeder Gruppe um das Tier mit den jeweils größten Hodenvolumen (Tabelle 16).

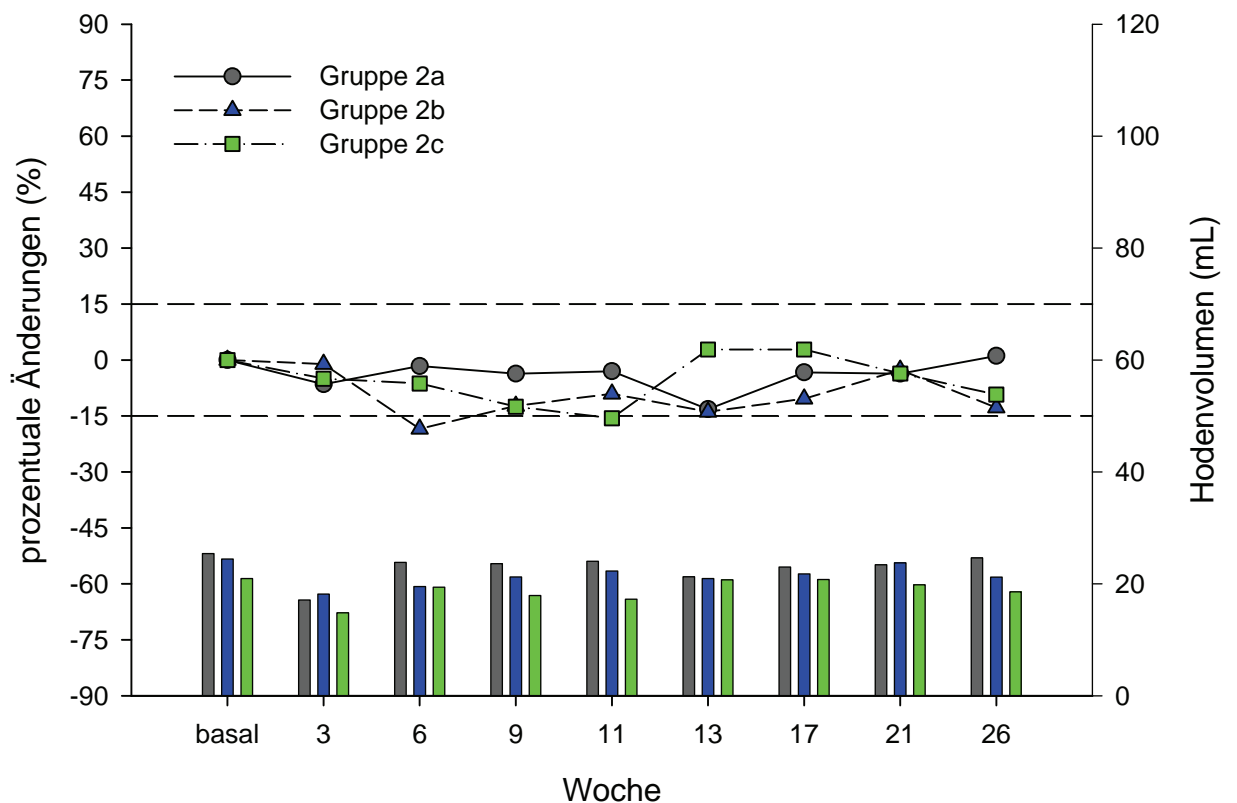


Abbildung 29a: Mittlere Änderung im Hodenvolumen (Mittelwert mit Standardfehler) bei Tieren der Gruppe 2a, 2b und 2c.

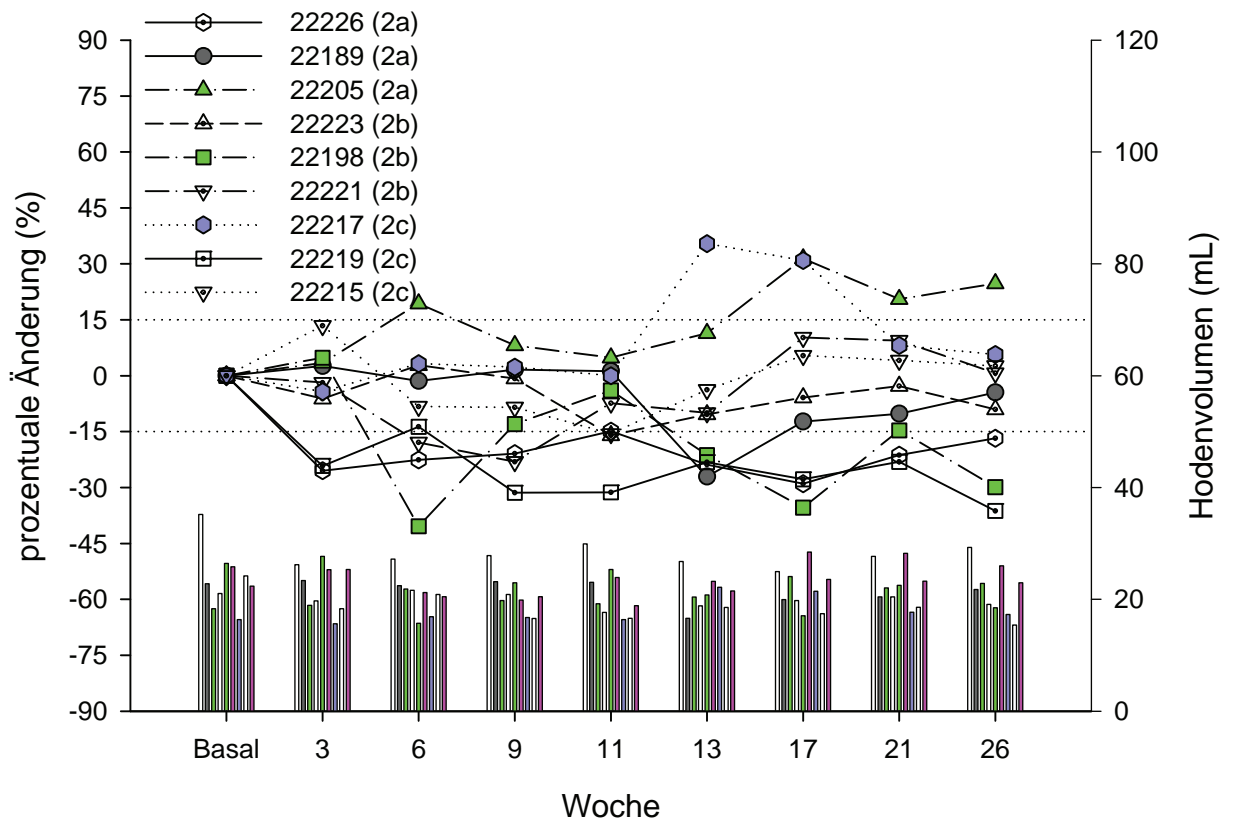


Abbildung 29b: Individuelle prozentuale Änderungen (Linie) und absolute Änderungen (Balken) im Hodenvolumen bei Tieren der Gruppe 2a, 2b und 2c.



Tabelle 16: Hodenvolumen der Tiere aus den Gruppen 2a bis 2c [Dreiergruppe, in mL (oben) und % (unten)], mit den Angaben zum sozialen Rang in Klammern.

Tier- nummer	Gruppe	Base- line	Woche 3 (30)	Woche 6 (33)	Woche 9 (36)	Woche 11 (38)	Woche 13 (40)	Woche 17 (44)	Woche 21 (48)	Woche 26 (53)
Hodenvolumen (mL)										
22226 (1)	2a	35.2	26.2	27.2	27.8	29.9	26.8	24.9	27.7	29.3
22189 (2)	2a	22.8	23.4	22.5	23.2	23.1	16.6	19.9	20.5	21.7
22205 (3)	2a	18.3	18.9	21.9	19.8	19.2	20.4	24.1	22.1	22.8
MW		25.4	22.8	23.8	23.6	24.1	21.3	23.0	23.4	24.6
22223 (1)	2b	21.0	19.7	21.6	20.9	17.7	18.9	19.8	20.5	19.1
22198 (2)	2b	26.4	27.7	15.7	22.7	25.3	20.8	17.1	22.5	18.5
22221 (3)	2b	25.8	25.3	21.2	19.9	23.9	23.2	28.5	28.3	26.0
MW		24.4	24.3	19.5	21.2	22.3	21.0	21.8	23.7	21.2
22217 (1)	2c	16.4	15.7	16.9	16.7	16.4	22.2	21.4	17.7	17.3
22219 (2)	2c	24.2	18.3	20.9	16.6	16.6	18.6	17.5	18.6	15.4
22215 (3)	2c	22.4	25.4	20.5	20.5	18.9	21.5	23.6	23.3	22.9
MW		21.0	19.8	19.4	17.9	17.3	20.7	20.8	19.9	18.5
prozentuale Änderung (%)										
22226 (1)	2a	0.0	-25.5	-22.6	-20.9	-14.9	-23.9	-29.0	-21.3	-16.8
22189 (2)	2a	0.0	2.6	-1.4	1.6	1.2	-27.1	-12.3	-10.2	-4.5
22205 (3)	2a	0.0	3.4	19.3	8.1	4.8	11.4	31.4	20.5	24.7
MW		0	-6.5	-1.6	-3.7	-3.0	-13.2	-3.3	-3.7	1.1
22223 (1)	2b	0.0	-6.2	2.8	-0.8	-16.0	-10.4	-5.9	-2.8	-9.1
22198 (2)	2b	0.0	4.8	-40.4	-13.0	-4.0	-21.3	-35.4	-14.7	-29.9
22221 (3)	2b	0.0	-1.9	-17.9	-23.1	-7.4	-10.0	10.2	9.4	0.7
MW		0	-1.1	-18.5	-12.3	-9.1	-13.9	-10.4	-2.7	-12.8
22217 (1)	2c	0.0	-4.3	3.2	2.3	0.0	35.4	30.9	8.1	5.7
22219 (2)	2c	0.0	-24.2	-13.7	-31.4	-31.3	-23.2	-27.8	-23.1	-36.3
22215 (3)	2c	0.0	13.4	-8.3	-8.5	-15.6	-3.8	5.4	4.1	2.6
MW		0	-5.0	-6.3	-12.5	-15.6	2.8	2.8	-3.6	-9.3

### 4.9.3 Testosteron

Auch für die Gruppen 2a bis 2c konnte kein Effekt auf der Ebene des Testosteronspiegels ermittelt werden. Im Mittel verhalten sich die Werte stabil, wobei die Schwankungen immer innerhalb der normalen Assay Varianz bleiben (Abbildung 30).

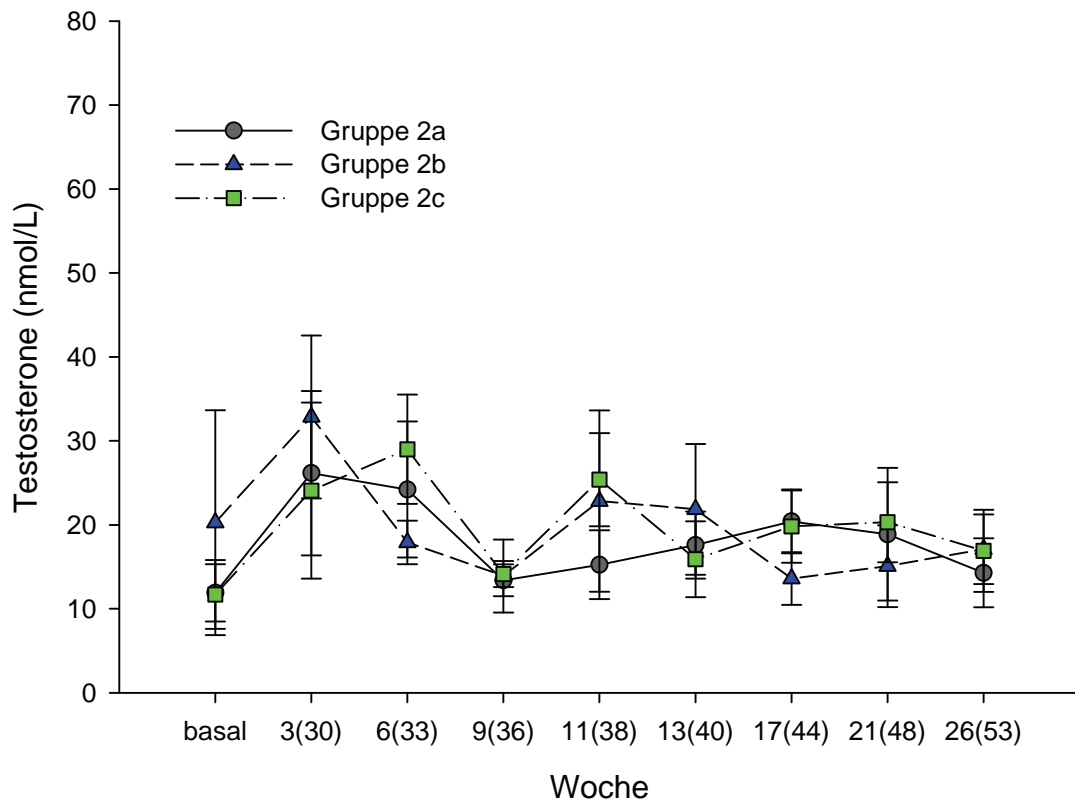


Abbildung 30: Mittlere Testosteronwerte von Tieren der Gruppen 2a bis 2c. Gezeigt sind die Gruppenmittelwerte mit dem Standardfehler, wobei in einzelnen Wochen immer Proben fehlten und somit die Anzahl immer unterschiedlich ist.

#### **4.10 Weibliche Tiere der Gruppe 1 [Gruppenhaltung]**

Diese Tiere stellten das weibliche Gegenstück zu den männlichen Tieren der Gruppe 1 dar. Auch diese Tiere hatten vor Beginn des Versuchsvorhabens keinerlei Kontakt untereinander und wurden als völlig neue Gruppe formiert. Anhand dieser Tiere sollte untersucht werden, ob es zu Veränderungen im Menstruationszyklus kommt. Der Fokus lag also auch hier auf den Fertilitätsparametern.

##### **4.10.1 Körpergewicht**

Bei den weiblichen Tieren zeigen sich ganz ähnliche Befunde für das Körpergewicht, wie bei den männlichen Tieren (Abbildung 31a). Anfänglich stagnierenden Werten, folgen starke Zunahmen über den gesamten Beobachtungszeitraum von 52 Wochen. Im Mittel stagnieren die Werte kurz von Woche 3 bis 6, steigen danach aber wieder bis zur Woche 44 stetig an und fallen dann wieder leicht ab. Bis dahin betragen die mittlere Zunahme im Körpergewicht fast 25 %, fallen danach aber bis zur Woche 52 wieder auf etwa 18 % ab. Im Vergleich zu der Körpergewichtsentwicklung mit dem Referenzkollektiv sind die Zuwächse allerdings deutlich stärker ausgeprägt. Lediglich ein Tier (21129) verliert dabei initial sogar an Körpergewicht (Abbildung 31b). Die Abbildung 31a zeigt die prozentualen Körpergewichtsveränderungen der weiblichen Tiere, im Vergleich zu dem ausgewerteten Referenzkollektiv. Die Tabelle 17 zeigt die individuellen Körpergewichte und prozentualen Änderungen der weiblichen Tiere.

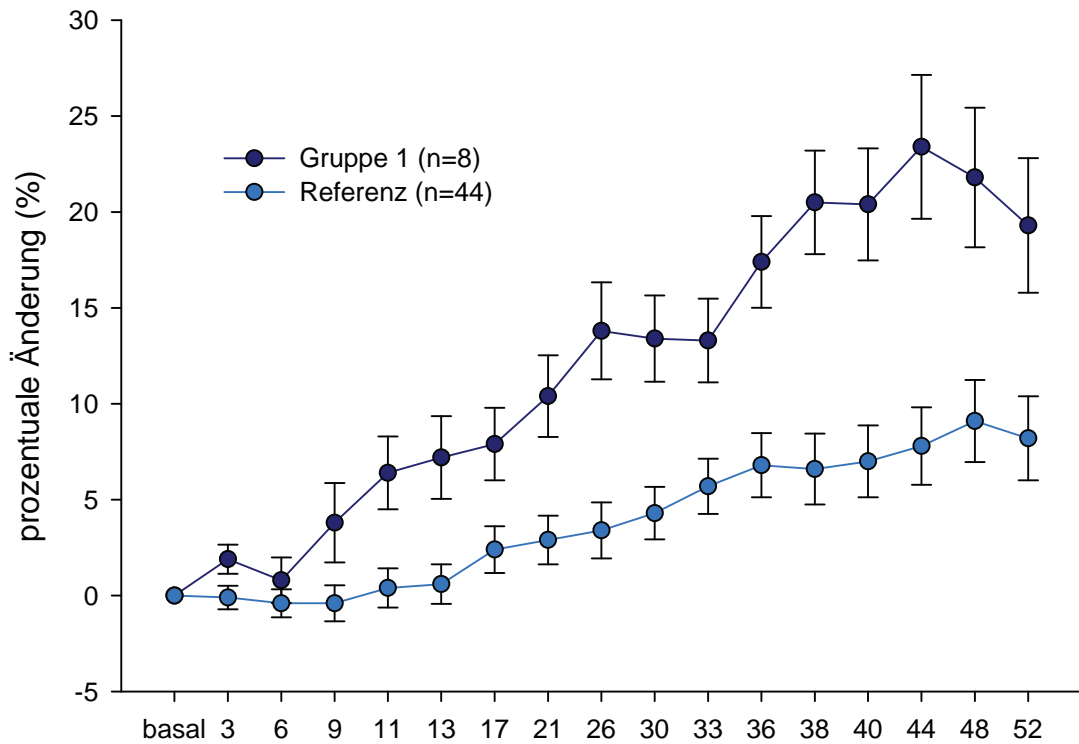


Abbildung 31a: Mittlere, prozentuale Änderungen im Körpergewicht bei den weiblichen Tieren aus Gruppe 1 (helle Kreise) im Vergleich zum entsprechenden Referenzkollektiv (dunkle Kreise) über den Beobachtungszeitraum von 52 Wochen. Dargestellt sind jeweiligen Mittelwerte mit dem Standardfehler.

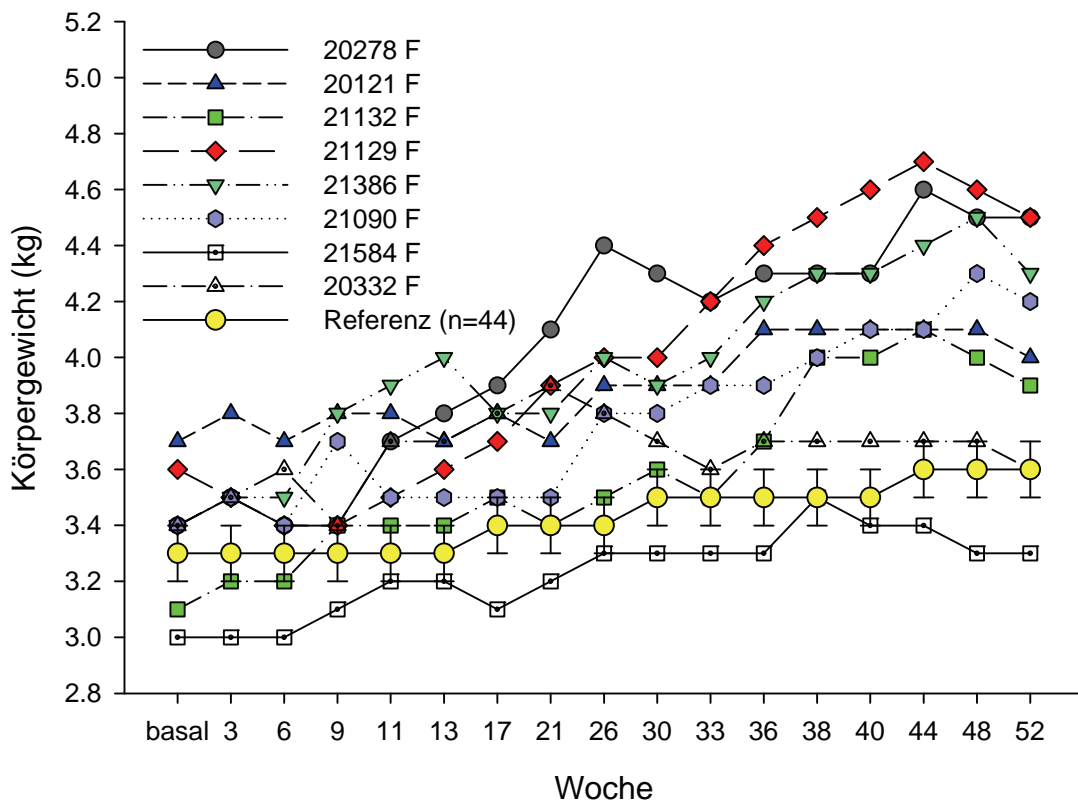


Abbildung 31b: Individuelle Körpergewichte bei weiblichen Tieren aus Gruppe 1 über 52 Wochen im Vergleich mit dem Referenzkollektiv mit dem Standardfehler.

Tabelle 17: Körpergewichte der weiblichen Tiere aus Gruppe 1 [Achtergruppe, in kg (oben) und % (unten)].

Tier Nr.	Gr.	Base line	3	6	9	11	13	17	21	26	30	33	36	38	40	44	48	52
Körpergewicht (kg)																		
20278	1	3.4	3.5	3.4	3.4	3.7	3.8	3.9	4.1	4.4	4.3	4.2	4.3	4.3	4.3	4.6	4.5	4.5
20121	1	3.7	3.8	3.7	3.8	3.8	3.7	3.8	3.7	3.9	3.9	3.9	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	4.0
21132	1	3.1	3.2	3.2	3.4	3.4	3.4	3.5	3.4	3.5	3.6	3.5	3.7	4.0	4.0	4.1	4.0	3.9
21129	1	3.6	3.5	3.4	3.4	3.5	3.6	3.7	3.9	4.0	4.0	4.2	4.4	4.5	4.6	4.7	4.6	4.5
21386	1	3.4	3.5	3.5	3.8	3.9	4.0	3.8	3.8	4.0	3.9	4.0	4.2	4.3	4.3	4.4	4.5	4.3
21090	1	3.4	3.5	3.4	3.7	3.5	3.5	3.5	3.8	3.8	3.9	3.9	4.0	4.1	4.1	4.3	4.2	4.1
21584	1	3.0	3.0	3.0	3.1	3.2	3.2	3.1	3.2	3.3	3.3	3.3	3.3	3.5	3.4	3.4	3.3	3.3
20332	1	3.4	3.5	3.6	3.4	3.7	3.7	3.8	3.9	3.8	3.7	3.6	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7	3.6
MW		3.4	3.4	3.4	3.5	3.6	3.6	3.6	3.7	3.8	3.8	3.8	4.0	4.1	4.1	4.2	4.1	4.0
Referenz		3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.4	3.4	3.4	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.6	3.6	3.6
prozentuale Änderung (%)																		
20278	1	0.0	2.9	0.0	0.0	8.8	11.8	14.7	20.6	29.4	26.5	23.5	26.5	26.5	26.5	35.3	32.4	32.4
20121	1	0.0	2.7	0.0	2.7	2.7	0.0	2.7	0.0	5.4	5.4	5.4	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	8.1
21132	1	0.0	3.2	3.2	9.7	9.7	9.7	12.9	9.7	12.9	16.1	12.9	19.4	29.0	29.0	32.3	29.0	25.8
21129	1	0.0	-2.8	-5.6	-5.6	-2.8	0.0	2.8	8.3	11.1	11.1	16.7	22.2	25.0	27.8	30.6	27.8	25.0
21386	1	0.0	2.9	2.9	11.8	14.7	17.6	11.8	11.8	17.6	14.7	17.6	23.5	26.5	26.5	29.4	32.4	26.5
21090	1	0.0	2.9	0.0	8.8	2.9	2.9	2.9	11.8	11.8	14.7	14.7	17.6	20.6	20.6	26.5	23.5	20.6
21584	1	0.0	0.0	0.0	3.3	6.7	6.7	3.3	6.7	10.0	10.0	10.0	10.0	16.7	13.3	13.3	10.0	10.0
20332	1	0.0	2.9	5.9	0.0	8.8	8.8	11.8	14.7	11.8	8.8	5.9	8.8	8.8	8.8	8.8	8.8	5.9
MW		0.0	1.8	0.8	3.8	6.4	7.2	7.9	10.5	13.8	13.4	13.3	17.4	20.5	20.4	23.4	21.8	19.3
Referenz		0.0	-0.1	-0.4	-0.4	0.4	0.6	2.4	2.9	3.4	4.3	5.7	6.8	6.6	7.0	7.8	9.1	8.2

#### 4.10.2 Zykluslängen

Bei den weiblichen Tieren der Gruppe 1 kommt es sehr bald nach der Gruppenformierung zu einer deutlichen Verschiebung im Menstruationszyklus, was bei nahezu allen Tieren zu beobachten ist. Über die ersten drei Beobachtungszyklen, in denen die Tiere noch einzeln und unter standardisierten Laborbedingungen gehalten wurden, zeigten alle Tiere einen normalen Rhythmus von ungefähr 31 Tagen. Unter den Gruppenhaltungsbedingungen verlängerte sich die mittlere Zykluslänge auf 46 Tage, normalisierte sich aber ab dem Zyklus sechs wieder (Abbildung 32).

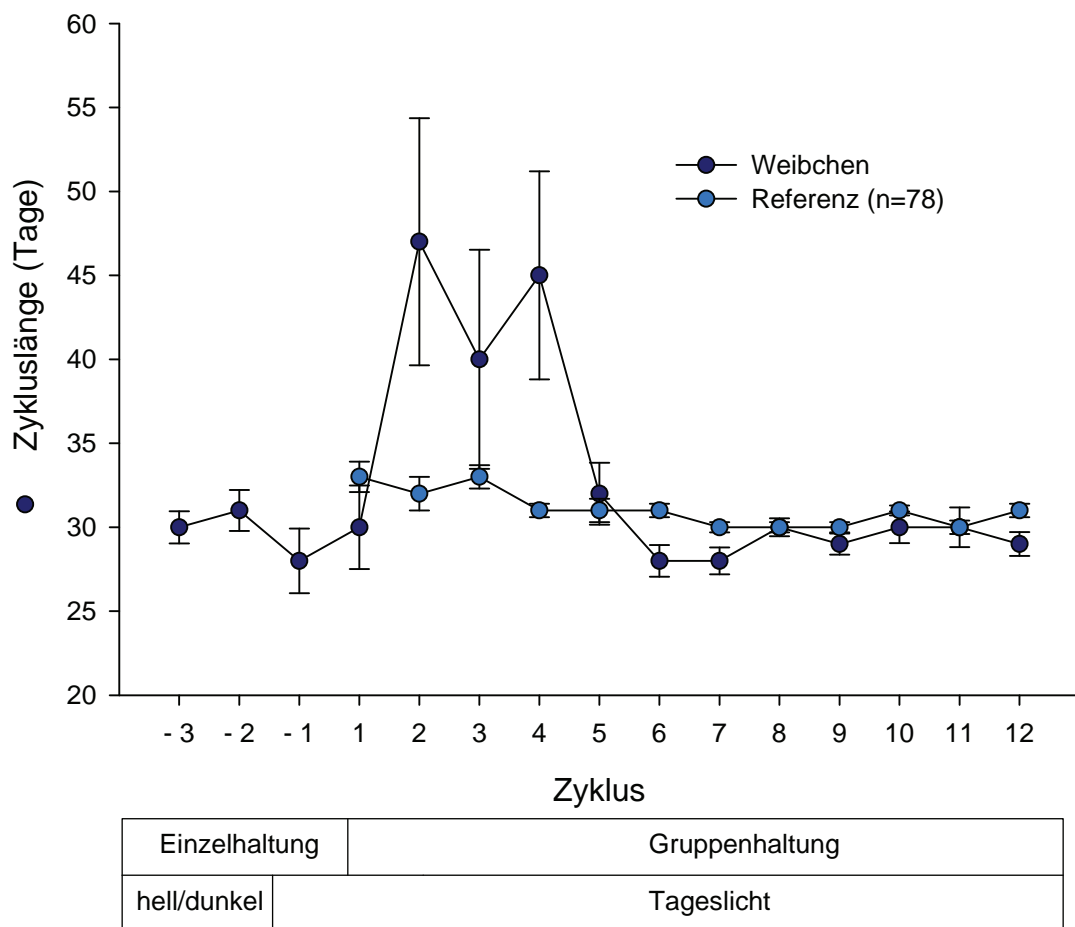


Abbildung 32: Mittlere Zykluslänge der Tiere über den gesamten Zeitraum der Beobachtungsphase (dunkle Kreise) von 3 Beobachtungszyklen (Einzelhaltung) und 12 weiteren Zyklen (Gruppenhaltung). Die Referenzdaten (helle Kreise) repräsentieren die Zykluslängen von 74 Tieren, die über 8-12 Monate aufgezeichnet wurden.

Wie der folgenden Abbildung deutlich zu entnehmen ist, treten die Verschiebungen im Ovulationszyklus teilweise zu unterschiedlichen Zeitpunkten auf, sind aber immer verlängert und es tritt keine Blutung verfrüht auf. Bei den meisten Tieren war die Verschiebung ab dem zweiten Zyklus nach der Gruppenformierung deutlich, spätestens aber ab dem dritten Zyklus ausgeprägt (Abbildung 33). Dabei waren die Befunde bei den Tieren 21090 und 20121 besonders auffällig, da die Zyklen hier über insgesamt vier Zyklen verlängert waren, wohingegen sich bei den restlichen Tieren die Menstruationsdauer schon nach zwei bis drei Zyklen wieder auf normale Längen eingestellt hatte. Ab dem sechsten Zyklus hatten alle Tiere wieder einen regulären Zyklus von  $30 \pm 5$  Tagen.

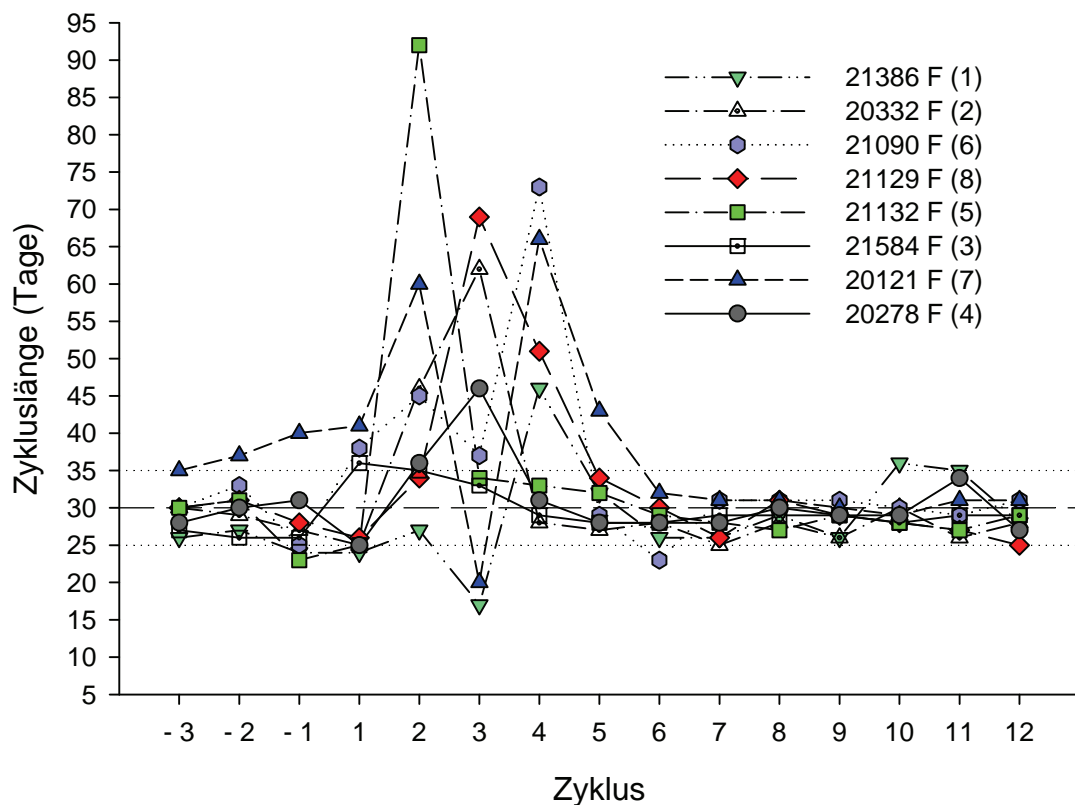


Abbildung 33: Individuelle Zykluslänge aller 8 Tiere über den gesamten Beobachtungszeitraum von 15 Monaten. Die Zyklen C-3 bis C-1 wurden unter standardisierten Laborbedingungen (Einzelhaltung) aufgezeichnet, die weiteren Beobachtungen wurden ohne festen hell/dunkel Rhythmus (Gruppenhaltung ab C1) aufgezeichnet. Die Zahlen in Klammern zeigen, in welcher Reihenfolge die Tiere in die Gruppenhaltung transferiert wurden.

Die Abbildung 34 macht deutlich, dass in diesem Kollektiv an Tieren keinerlei Synchronisation oder Saisonalität über den Beobachtungszeitraum von Januar 2004 bis Juni 2005 beobachtet werden konnte. Die Zyklen setzten bei den unterschiedlichen Tieren zu Zeiten der Einzelhaltung (schraffierte Flächen) und Gruppenhaltung immer leicht versetzt voneinander ein. Deutlich ist aber auch das teilweise komplette Ausbleiben einzelner Blutungen zu erkennen (Abbildung 34).

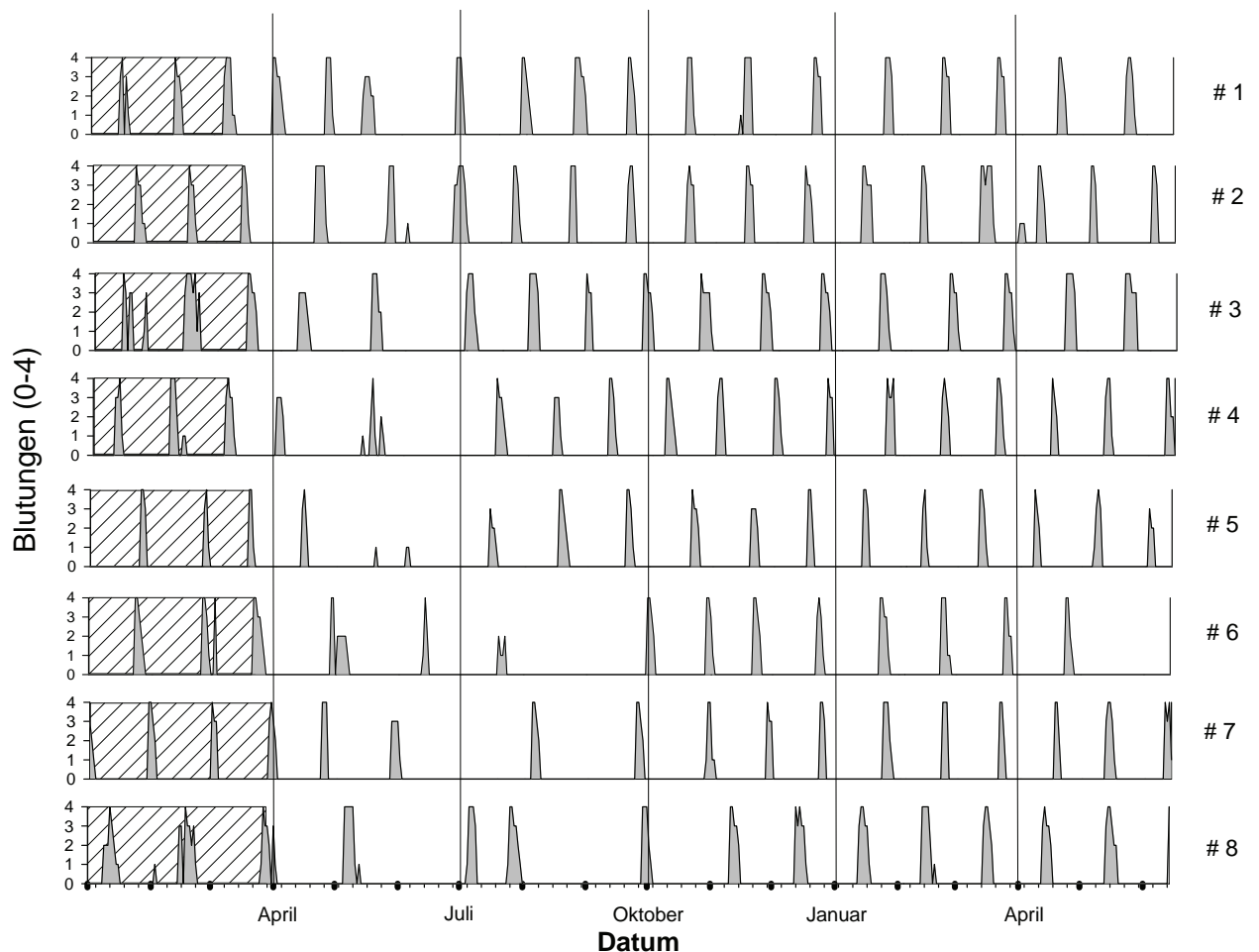


Abbildung 34: Individuelle Zyklusmuster von 8 Tieren über einen Zeitraum von 16 bis 18 Monaten. Der schraffierte Bereich zeigt den Zeitraum der Einzelhaltung. Die y Achse zeigt den Grad der Regelblutung in den einzelnen Tieren.



### 4.10.3 Hormone

Diese Beobachtungen korrelieren sehr gut mit den Hormondaten der Tiere, wonach die verlängerten Ovulationszyklen von einem fehlenden Östradiol Peak begleitet werden. Die Abbildung 35 zeigt einen deutlichen Peak um den Ovulationszeitpunkt herum (Tag 12-13), der dann wieder abfallende Werte zeigt. Außerdem ist zum Zyklus eins und fünf ein Östradiol Peak am Tag 15 zu erkennen (vergl. 2.4.3). Es ist deutlich zu erkennen, dass es im Zyklus drei keinen Östradiolpeak mehr gibt, hier bleiben die Werte konstant niedrig. Statistisch signifikant erniedrigt waren die Werte an den Tagen 4, 10, 11 und 18 im Zyklus 3 (vergleiche Abbildung 36).

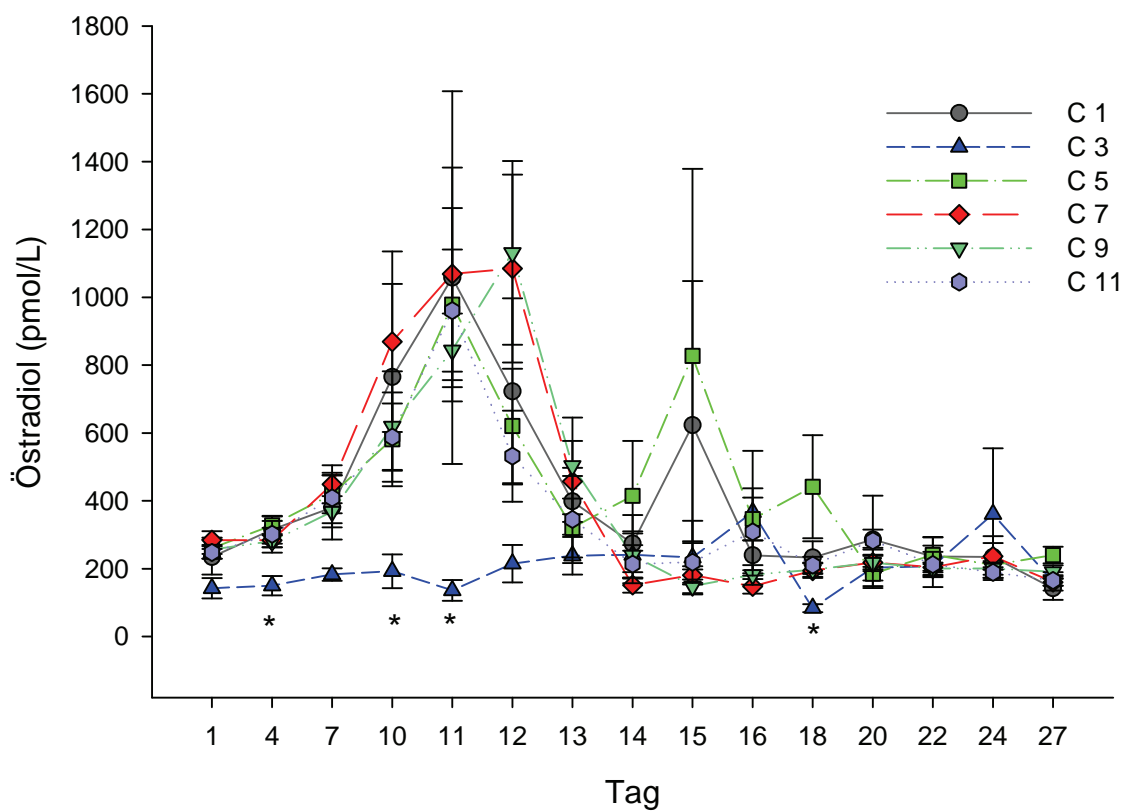


Abbildung 35: Die mittleren Östradiolwerte für die Zyklen 1, 3, 5, 7, 9 und 11 bei allen Tieren (Mittelwerte mit Standardfehler).

Ähnliches kann zu den Progesteronwerten gesagt werden (Abbildung 36). Hier ist mit einem Anstieg des Progesterons nach erfolgter Ovulation zu rechnen (vergleiche 2.4.3), der auch in allen Zyklen (1, 5, 7, 9 und 11) einsetzte, einzig in dem Zyklus 3 aber ausgeblieben ist. Hier ist zwar ein leichter Anstieg zum Tag 27 zu erkennen, der aber sicher nicht durch eine Ovulation zu erklären ist, da der Anstieg viel zu niedrig ist. Dabei wurden für den Zyklus drei an den Tagen 13, 14 und 16 signifikant erniedrigte Progesteronspiegel im Vergleich zu dem Zyklus eins nachgewiesen.

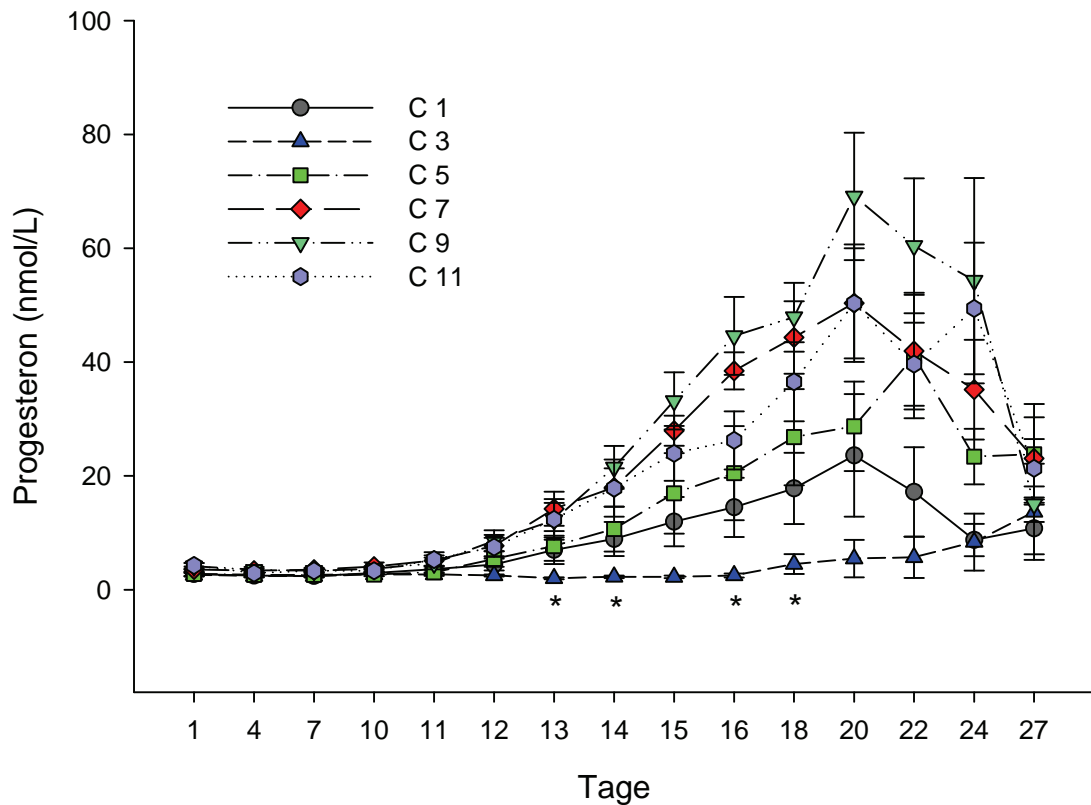


Abbildung 36: Die mittleren Progesteronwerte für die Zyklen 1, 3, 5, 7, 9 und 11 bei allen Tieren (Mittelwerte mit Standardfehler).

#### **4.11 Weibliche Tiere der Gruppen 2 und 3 [Paarhaltung]**

Die weiblichen Tiere der Gruppe 2 saßen vor Beginn des Versuchsvorhabens über einen Zeitraum von >3 Monaten in Paaren zusammen. Anhand dieser Gruppe sollte untersucht werden, ob es Effekte auf den Menstruationszyklus gibt, die auf den mit dem Studienstart induzierten Stress verbunden sind.

Die weiblichen Tiere der Gruppe 3 zeigten einen regelgerechten Zyklus vor Versuchsbeginn, wobei hier die Zyklen bei Tieren aufgezeichnet wurden, die entweder allein oder mit einem anderen, als für die Studie zugewiesenen Partner zusammen saßen. Im April bekamen dann alle vier Tiere einen neuen Partner und die Zyklen wurden weiter aufgezeichnet. Anhand dieser Gruppe sollte untersucht werden, ob die Ausbildung neuer Paare kurz vor Beginn eines Versuchsvorhabens, einen Einfluss auf den Menstruationszyklus hat.

##### **4.11.1 Menstruationsdaten (Gruppe 2)**

Anhand der Menstruationsdaten kann hier die klare Aussage getroffen werden, dass der Menstruationszyklus bei keinem der sechs untersuchten Tiere Veränderungen zeigte. Die Zyklen aller sechs Tiere zeigen sich stabil über den gesamten Zeitraum der Beobachtung und es wurden keine Abweichung von den normalen Variationen von 30 Tagen ( $\pm 4$  Tagen) aufgezeichnet. Eine detaillierte Aufstellung der Menstruationzyklen kann der Abbildung 37 und 38 entnommen werden.

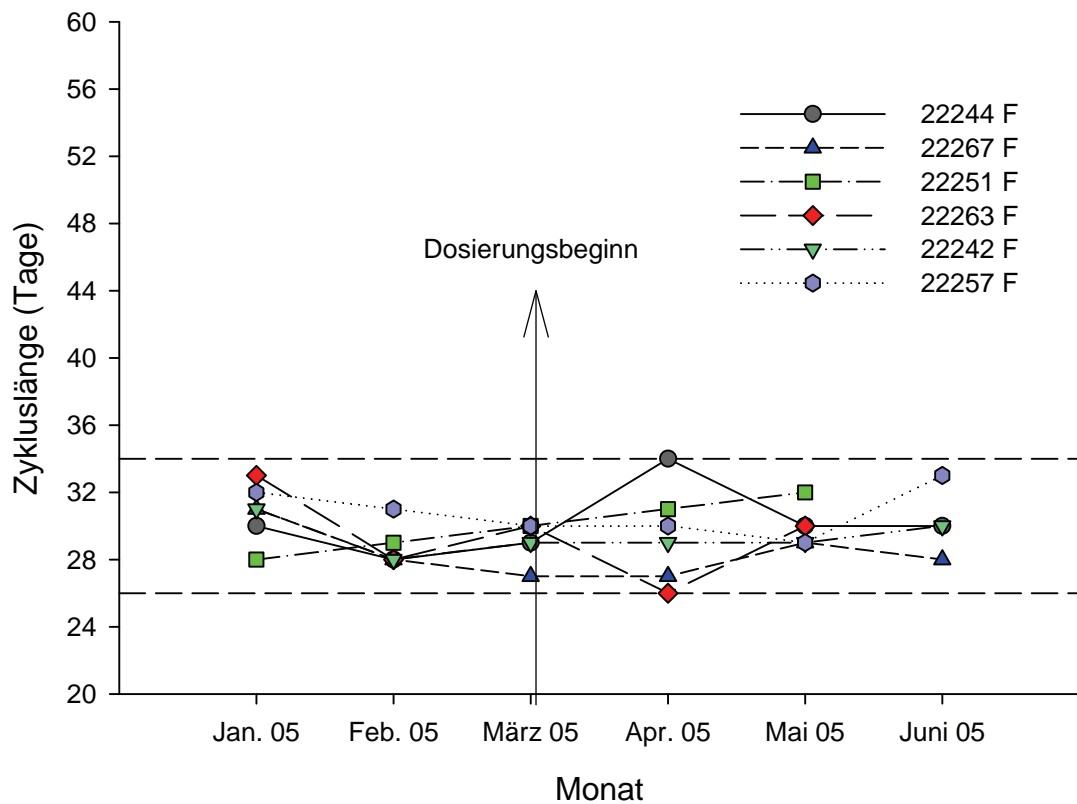


Abbildung 37: Menstruationszyklen der weiblichen Tiere aus der Gruppe 2 über den gesamten Beobachtungszeitraum. Die Tiere waren wie folgt in Paare eingeteilt: 22244, 22267 (Kreis); 22251, 22263 (Dreieck); 22242, 22257 (Quadrat). Die gestrichelte Linie zeigt die normale Variation, der Dosierungsbeginn war im März 2005 (Pfeil).

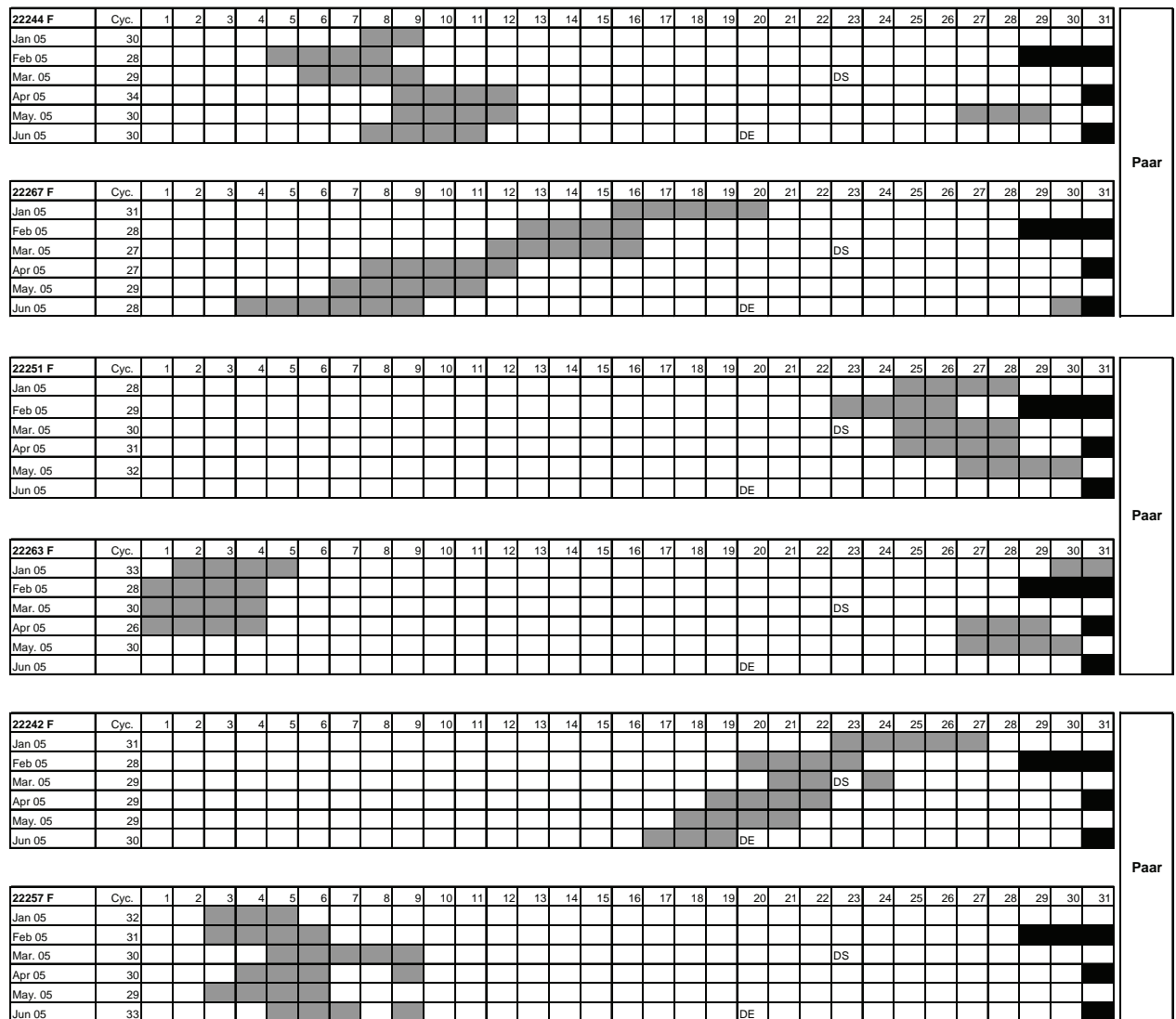


Abbildung 38: Menstruationstage der weiblichen Tiere aus der Gruppe 2 über den gesamten Beobachtungszeitraum. Der Start der Dosierung war am 23 März (DS) und die Studie wurde am 20 Juni beendet (DE). Die grauen Kästchen zeigen einen Blutungstag an.

#### 4.11.2 Menstruationsdaten (Gruppe 3)

Innerhalb dieser Paare verhielt es sich nun so, dass jeweils ein Tier offensichtlich mit einem verlängerten Zyklus auf die neue Situation reagiert. Die Verlängerungen traten ungefähr zwei bzw. drei Zykluslängen nachdem die neuen Paare gebildet wurden auf, wobei diese Erscheinung nur bei einem Tier (22035 F) wirklich augenscheinlich ist. Bei dem zweiten Tier (22026 F) sind die Zyklen nur leicht verlängert. Eine Aufstellung der Befunde kann den Abbildungen 41 und 42 entnommen werden.

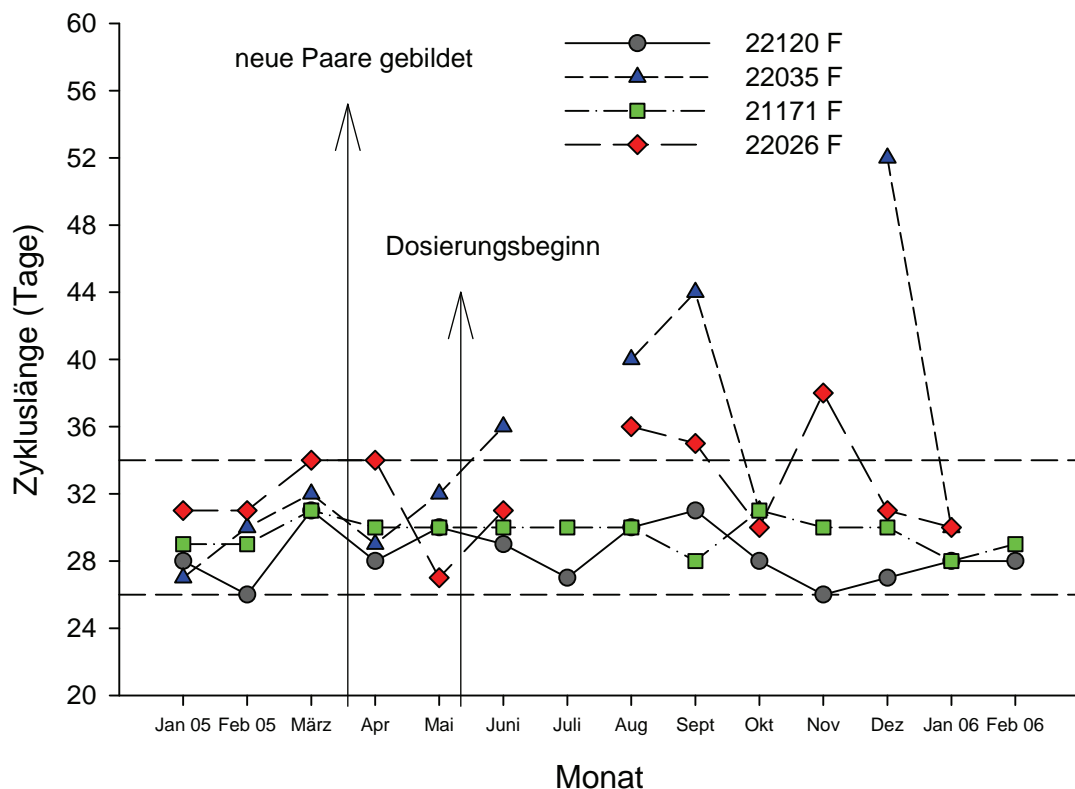


Abbildung 39: Menstruationszyklen der weiblichen Tiere aus der Gruppe 3 über den gesamten Beobachtungszeitraum. Die Tiere waren wie folgt in Paare eingeteilt: 22120, 22035 (Kreis); 21171, 22026 (Dreieck). Die Tiere wurden am 15 April mit dem neuen Partner zusammen gesetzt, und die Dosierung am 24 Mai gestartet.

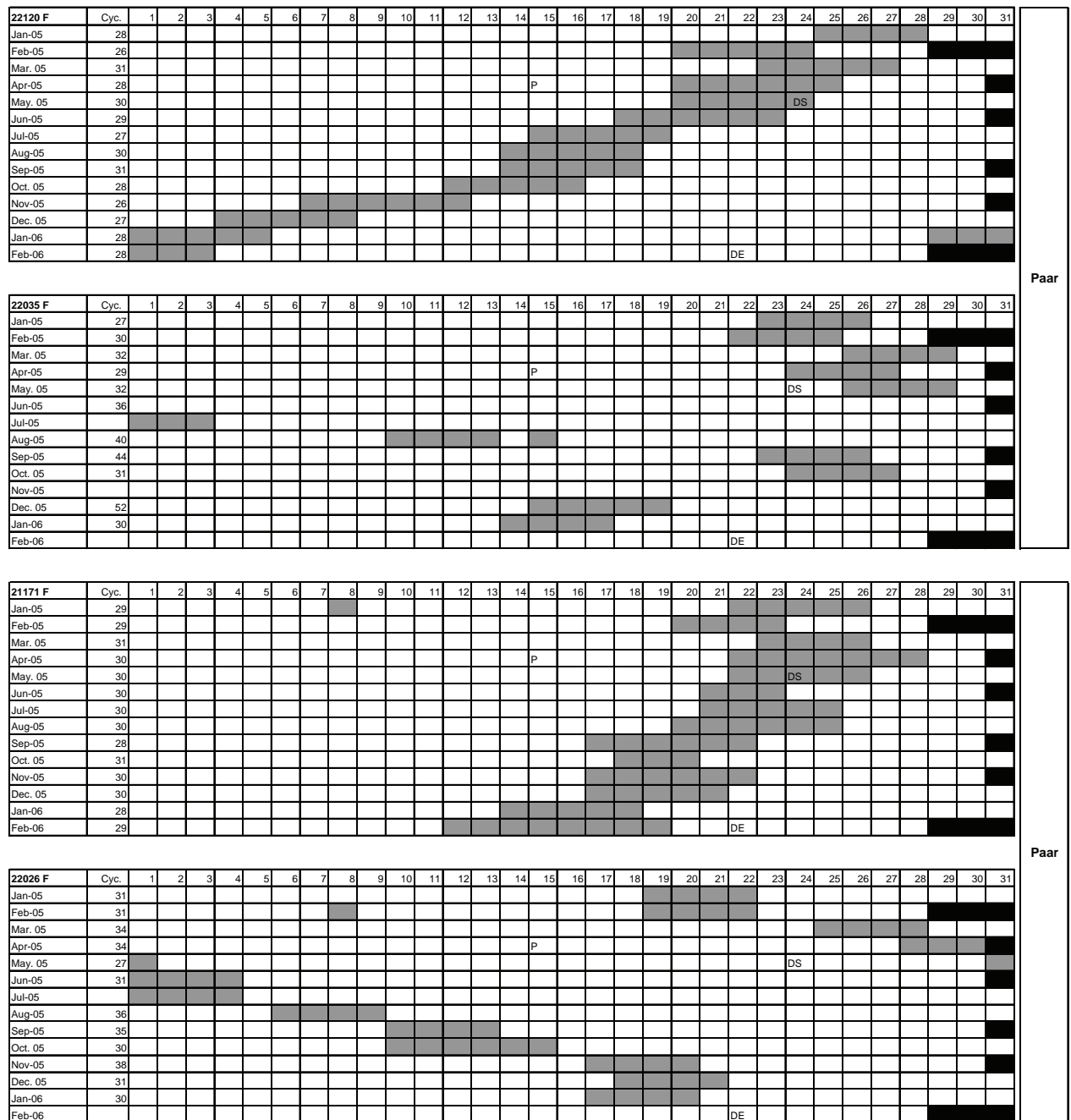


Abbildung 40: Menstruationstage der weiblichen Tiere aus der Gruppe 3 über den gesamten Beobachtungszeitraum. Der Start der Dosierung war am 24 Mai (DS) und die Studie wurde am 22 Februar beendet (DE). Die grauen Kästchen zeigen einen Blutungstag.

## 5 DISKUSSION

Mit dieser Arbeit sollte der Frage nachgegangen werden, ob die Neuformierung einer Gruppe gleichgeschlechtlicher, fertiler, männlicher und weiblicher Javaneraffen mit Veränderungen in Standardparametern der Toxikologie (Körpergewicht, Enzymaktivitäten, Elektrolyten) und/oder spezieller Fertilitätsparameter (Hormonspiegel, Hodengröße, Spermienzahl, Menstruationszykluslänge) einhergeht. Ferner sollte durch die Auswertung der weiblichen Zyklusdaten evaluiert werden, ob der durch den Studienstart induzierte Stress Einfluss auf die Ovulation nehmen kann und/oder ob die Dauer der Paar- oder Gruppenbildung Berücksichtigung finden sollte.

Von elementarer Bedeutung für diese Arbeit ist der Nachweis, dass die Bildung gleichgeschlechtlicher Gruppen problemlos möglich ist, unabhängig davon, ob die Tiere anfänglich schon Kontakt untereinander hatten (Gruppen 2 bis 4), oder sich vorher völlig fremd sind (Gruppe 1). Dabei hat sich allerdings auch gezeigt, dass mit leichten Verletzungen gerechnet werden kann, diese aber deutlich zurückgehen, sobald die Rangordnung etabliert ist. Bei weiblichen Makaken zeigten sich Verletzungen als Resultat von Revierstreitigkeiten über einen wesentlich längeren Zeitraum. Daher sollte den Tieren eine Eingewöhnungsphase, während der sie kontinuierlich beobachtet werden, eingeräumt werden. Andere Arbeitsgruppen haben diese Beobachtung nicht gemacht, und Paare, die offensichtlich nicht kompatibel waren (9 von 40 = 31 %), wurden von vorneherein ausgeslektiert (Reinhardt 1995). Des weiteren konnte in dieser Arbeit der Nachweis erbracht werden, dass bei männlichen Tieren der individuelle Rang eindeutig mit dem Körpergewicht und bedingt mit dem Hodenvolumen korreliert, die Hormondaten als Vorhersagemodel weniger zuverlässig sind, und über die Spermienzahl und -motilität keinerlei Aussage über den sozialen Rang getroffen werden kann. Es ist vielleicht ein gewisser Zusammenhang zwischen dem Rang und der Ejakulatmenge und/oder der Spermienzahl zu erahnen, jedoch ist eine fundierte Aussage diesbezüglich auf Grund der geringen Tierzahl nicht möglich. Dieser Nachweis deckt sich mit den Ergebnissen einer anderen Arbeit, die außerdem andere Parameter (z.B. Bewegungs- und Aktivitätsmuster) zur potentiellen Vorhersage vorschlagen (Morgan et al. 2000).



Für männliche Javaneraffen wurde gezeigt, dass die Überführung aus einer Einzelhaltung in eine soziale Gruppenhaltung keinen nachweislichen Effekt auf den Stoffwechsel der Tiere zur Folge hat. Die Auswertung der untersuchten Parameter zur Klinischen Chemie ergaben für die untersuchten Tiere keinerlei Unterschiede im Vergleich zu den Referenzdaten. Alle gemessenen Parameter verhielten sich stabil über die gesamte Dauer der Beobachtung. Die Neuformierung einer Gruppe hat somit keinen Einfluss auf den Stoffwechsel der Tiere, was sich sonst in den evaluierten Leber- und Nierenwerten hätte zeigen sollen. Es liegen zwar Untersuchungsergebnisse vor, die besagen, dass externe Impulsgeber (z.B. Futterstatus, Häufigkeit des Handlings der Tiere usw.) die Daten zur Klinischen Chemie beeinflussen können, aber es liegen dem Autor keine Publikationen zum Effekt einer Gruppenhaltung vor (Hall und Everds 2003). Hassimoto et al. zeigten am Rhesusaffen (*Macaca mulatta*) dass es keine nennenswerten Veränderungen der Enzymaktivitäten gibt, wenn Tiere einem Stressor ausgesetzt werden (Hassimoto et al. 2004). Eine andere Arbeitsgruppe konnte an anderen Spezies im Gegensatz dazu nachweisen, dass es durchaus Unterschiede geben kann. Boere et al. zeigten beim Marmoset Affen (*Callithrix penicillata*) Veränderungen in der Hämatologie, wobei hier Monozyten und Lymphozyten besonders betroffen waren (Boere et al. 2003). Man kann aber davon ausgehen, dass bei anderen Parametern, wie beispielsweise der Kreatinkinase oder anderen spezifischen Muskelenzymen in dieser Arbeit möglicherweise Abweichungen zu den Referenzdaten aufgetreten wären, da die Körpergewichtsentwicklung (vergleiche 4.6.1) der Tiere auf ein verstärktes Muskelwachstum hindeutet.

Für das Körpergewicht stellte es sich so dar, dass die Tiere in der frühen Phase der Gruppenneuformierung eher an Körpergewicht verlieren als Tiere, die nicht in Gruppen gehalten werden. Dieser Effekt konnte sowohl bei den männlichen, als auch bei den weiblichen Tieren beobachtet werden. Vermutlich ist das auf die deutlich vergrößerten Auslaufflächen und dem damit verbundenen größeren „Aktionsradius“ zurückzuführen. So waren die Wege zur Futterquelle deutlich vergrößert und die Tiere mussten sehr viel Zeit für die Futtersuche aufbringen, welches teilweise in den Gehegen verteilt wurde, um die Tiere zur Futtersuche zu animieren („Foraging“).

Suzuki et al. zeigten bei Japanmakaken (*Macaca fuscata*) dass Tiere die innerhalb größerer Käfige aufwuchsen neben anderen somatischen Unterschieden auch deutlich höhere Körpergewichte aufweisen; ein mögliches Indiz für die bessere Entwicklung in den unterschiedlichen Umgebungen (Suzuki et al. 2001). Außerdem konnte gezeigt werden, dass Tiere die einem anspruchsvolleren Käfigdesign ausgesetzt sind, sich in der Körpergewichtsentwicklung von Tieren, die in einem weniger anspruchsvollen Käfig aufwuchsen, in der Form unterscheiden, dass sie im Mittel schwerer sind (Schapiro und Kessel. 1993). Generell gilt es als erwiesen, dass die Gruppenhaltung den vermutlich positivsten Einfluss auf die physische Entwicklung von in Laboren gehalten und aufgezogen Primaten nimmt (Capitanio et al. 2006). Interessant war in dieser Arbeit auch, dass besonders die Tiere mit höherem sozialem Rang betroffen waren. Möglicherweise also auch ein Effekt, der auf die anfangs sicherlich durchgeführten Revierkämpfe, und die damit verbundenen höheren körperlichen Anforderungen, speziell für die ranghohen Tiere zurück geführt werden könnte. In diesem Fall hätte man allerdings eine Korrelation mit dem Kreatinin erwarten können (Hassimoto et al. 2004). Die Auswertung weiterer Muskelenzyme (z.B. CK-Isoenzyme) könnte hier detailliertere Erkenntnisse liefern. Die Gruppengröße scheint dabei für die Körpergewichtsentwicklung allerdings keine Rolle zu spielen, da vergleichbare Effekte auch in den kleineren Gruppen 1a und 1b beobachtet wurden. Ob die Käfiggröße alleine tatsächlich für die beschriebenen Befunde verantwortlich ist, kann an dieser Stelle nicht abschließend beantwortet werden. Um diese Frage zu klären, müssten weitere Tiere, in unterschiedlich großen Gehegen untergebracht werden. Frühere Untersuchungen an Javaneraffen zeigten jedoch keine vergleichbaren Ergebnisse; zumindest bei Tieren, die in Paaren gehalten wurden. Bei der Bildung von gleichgeschlechtlichen Paaren kam es dabei zu keinerlei Auswirkungen auf das Körpergewicht, was beispielsweise von Eaton et al. damit begründet wurde, dass das Teilen des Futters eine wichtige soziale Komponente, und ein Indikator für funktionierende Paare darstellt (Eaton et al. 1994). Wenn man davon ausgeht, dass man die Gruppenhaltung als ein Instrument des „Enrichments“ ansieht, lassen sich die späteren überdurchschnittlich starken Körpergewichtszunahmen in dieser Arbeit dadurch möglicherweise erklären.

Ferner wurde nachgewiesen, dass Tiere in reichhaltig ausgestatteten Käfigen deutlich stärkere Körpergewichtszunahmen zeigen, als Tiere die in Standardkäfigen aufwachsen (Schapiro und Kaplan 1993). Veröffentlichungen, die sich direkt mit den Auswirkungen einer Gruppenhaltung auf das Körpergewicht bei Primaten beschäftigen, liegen - nach Kenntnis des Autors - derzeit nicht vor.

Bei den Hodenvolumina kam es unabhängig von der Gruppengröße immer zu nachweislichen Änderungen. Besonders hervorzuheben ist dabei, dass sich die Hodenvolumina der hochrangigen Tiere aus Gruppe 1 über den Verlauf der 26-wöchigen Beobachtungsphase sehr stabil verhielten, im Gegensatz dazu aber alle Tiere niederen Ranges anfangs deutlich an Hodenvolumen verloren haben. Dieser Effekt hatte sich nach ungefähr 13 Wochen wieder eingespielt und die Hodenvolumina aller Tiere zeigten sich über die restlichen 13 Wochen stabil. Im Gegensatz zu den Erkenntnissen von Mahone und Dukelow kann ausgeschlossen werden, dass es sich bei diesen Befunden um saisonale Schwankungen handelt (Mahone und Dukelow 1979). Unsere Daten belegen, dass die Änderungen – wenn überhaupt – als eine Reaktion auf die veränderte Umgebung zurückzuführen sind, da Effekte immer nur initial und nie gerichtet in Anhängigkeit mit der Jahreszeit auftraten. Außerdem hätten sich im Falle einer Saisonalität auch die Hodenvolumen der dominanten Tiere ändern müssen. Hervorzuheben ist hierbei der Befund bei dem Tier 21927, das auf den Rücktransfer in eine Einzelhaltung mit deutlichen Zunahmen im Hodenvolumen reagierte. Möglicherweise war dies eine Reaktion auf den damit für das Tier unterbrochenen Rangordnungsdruck, da es sich hier um ein nicht dominantes Tier handelte. Obwohl diese Veränderungen im Hodenvolumen nicht mit den FSH Werten, dem Hauptregulator des Hodenvolumens bei *Macaca fascicularis* (Plant und Marschall 2001), oder dem Inhibin B, einem Marker der Sertolizellenfunktion (Foppiani et al. 1999) korrelieren, könnten möglicherweise minimale hormonelle Schwankungen für eine Senkung des Zellturnovers im Hodengewebe verantwortlich sein, was sich bei den Messungen mittels Handschieblehre bemerkbar machen würde. Innerhalb der Untergruppen 1a und 1b stellte es sich etwas anders dar.

Hier gingen die Hodenvolumina aller Tiere der Gruppe 1a (dominant) anfänglich leicht zurück und stellten sich nach etwa 13 Wochen wieder auf die ursprünglichen Größen ein. Ferner wurde der ursprünglich in der Gruppe 1 etablierte, individuelle soziale Rang in der Gruppe 1a beibehalten. Innerhalb der Gruppe 1b konnte keine echte Hierarchie mittels Food Challenge Test ermittelt werden. Diese Tiere stellten also auch nach der Separation von den ranghohen Tieren kein eigenes Alpha Männchen. Die Hodenvolumina der Tiere aus der Gruppe 1b, die einen niedrigen Rang bekleideten, nahmen über den Verlauf von 26 Wochen zu. Darin kann man eine Bestätigung sehen, dass auch hier der Rangordnungsdruck für diese Effekte verantwortlich zu sein scheint. Dem Autor sind keine Arbeiten an Makaken zu diesem Thema bekannt. Allerdings scheinen Untersuchungen am Tamarin (*Saguinus mystax*) diese These zu unterstützen (Garber et al. 2004). Eine weitere Erklärung könnte dabei in der Gruppengröße zu finden sein, da in den untersuchten kleineren Gruppen die Effekte deutlich geringer ausgeprägt waren. Dagegen spricht, dass die vorher beschriebenen Effekte nicht durch die Untersuchung der Gruppen 2 bis 4 verifiziert werden. Zwar gab es auch hier Schwankungen im Hodenvolumen, diese schienen aber nicht so gerichtet zu sein und betraf auch immer nur einzelne Tiere. Diese Gruppen hatten – anders als die Tiere der Gruppe 1 – vor dem Versuchsbeginn schon alle zumindest in denselben Stallungen gelebt, hatten also schon Kontakt untereinander, wenn auch nicht als soziale Gruppe, was die deutlich schwächer ausgeprägten Effekte erklären könnte. Die Tiere der Gruppe 1 waren sich hingegen völlig fremd und hatten vorher keinerlei Kontakt untereinander. Daraus könnte man folgern, dass die beschriebenen Effekte auf das Hodenvolumen tatsächlich nur vorübergehend nachweisbar sind und nicht dauerhaft anhalten. Man könnte auch spekulieren, ob nicht das olfaktorische System der Tiere allein schon ausreicht, um eine Rangordnung innerhalb eines Stalles, auch ohne die Möglichkeit der sozialen Interaktion, zu etablieren wie von Michael und Keverne postuliert (Michael und Keverne 1968).

Die Auswertung der Hormondaten und die Ejakulatanalysen zeigen, dass eine Gruppenformierung die Hormonspiegel (Testosteron, FSH, Inhibin-B) offenbar nicht beeinflusst. Hier kann kein eindeutiger Trend in Richtung steigender oder fallender Werte ermittelt werden. Auch bei den Ejakulatuntersuchungen wurden keinerlei Veränderungen festgestellt, sodass ein echter systematischer Einfluss der Gruppenhaltung ausgeschlossen werden kann.

Es bleibt aber festzuhalten, dass die Spermienzahlen wie auch die Hormonspiegel bei nicht dominanten Tieren generell niedriger waren – und zwar über die gesamte Dauer der Beobachtungsphase – als bei den dominanten Tieren. Diese Beobachtung steht in klarem Gegensatz zu den Untersuchungen von Cameron, wo es zur zeitweiligen totalen Sterilität einzelner Tiere gekommen ist (Cameron 1997). Allerdings korrelierten die Abnahmen im Hodenvolumen nicht mit den Testosteronwerten, welches im Hodengewebe gebildet wird. Lediglich bei dem vorher genannten Tier (21927 M), dass auf die Separation aus der Gruppe mit deutlichen Zunahmen im Hodenvolumen reagierte, wurde eine korrelierende Zunahme im Testosteron und Inhibin-B festgestellt.

Auch für die weiblichen Tiere der Gruppe 1 konnte auf Ebene der Körpergewichtsentwicklung eine Abweichung im Vergleich zur Einzelhaltung beobachtet werden. Allerdings waren die Abweichungen hier deutlich geringer ausgeprägt, als bei den männlichen Tieren. Dieses Phänomen kann eventuell darauf zurückgeführt werden, dass die weiblichen Tiere ein geringeres Körpergewicht aufweisen und auch weniger an Körpergewicht zulegen, wenn es sich um ausgewachsene Tiere handelt. Inoue hat an Japanaffen (*Macaca fuscata*) beobachtet, dass weibliche Tiere 2 Jahre früher (im Alter von 6 Jahren) nicht weiter an Körpergewicht zulegen.

Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass die Neuformierung einer Gruppe mit massiv verlängerten bzw. ausbleibenden Menstruationszyklen einhergeht. Außerdem konnte bei diesen Tieren keine Synchronisation im Menstruationszyklus festgestellt werden, was sich nicht mit den früheren Berichten von Wilson beim Menschen (Wilson et al. 1991) und Wallis im Cynomolgen (Wallis und King 1986) deckt. Die ausbleibenden Östrogenpeaks resultieren in ausbleibenden Progesteronpeaks, mit der Folge, dass die Menstruationsblutung nicht eintritt. Dieser Effekt scheint sich über einen Zeitraum von mindestens 3 Monaten zu erstrecken. Ist die Gruppe dann aber einmal etabliert, verhalten sich die Hormonspiegel und daraus resultierend die Zyklen wieder regelgerecht. Eine Erklärung zur Ursache für die veränderten Hormonspiegel liefert diese Arbeit nicht, und es bleibt fraglich, ob diese Effekte innerhalb der Gruppe 1 eventuell auch lediglich auf das eventuell erhöhte Stressniveau der Tiere zurück zu führen ist, oder der Transfer aus den standardisierten Laborbedingungen ins Freiland für diese Effekte verantwortlich ist. Dagegen spricht allerdings die Tatsache, dass der erste Zyklus [C1] – während dem die Tiere nicht unter standardisierten Laborbedingungen untergebracht waren – ohne Befund war.

Die Zyklen waren regelmäßig und Abweichungen wurden erst ab dem zweiten, unter Gruppenhaltungsbedingungen aufgezeichneten Zyklus festgestellt. Außerdem wird durch die Untersuchung der weiblichen Tiere der Gruppe 2 gezeigt, dass der zu Beginn eines Versuches möglicherweise induzierte Stress - durch das häufige Handling der Tiere und die ungewohnten Versuchsabläufe - offenbar keine negativen Auswirkungen auf den Menstruationszyklus der Tiere hat. Obwohl im Rahmen dieser Arbeit innerhalb dieser Gruppe keine Untersuchungen auf hormoneller Ebene durchgeführt wurden, kann man davon ausgehen, dass auch hier keine Effekte zu erkennen gewesen wären. Im Gegensatz dazu kommt es bei der Neuformierung von weiblichen Paaren ebenfalls zu einer Verschiebung der Zyklusdauer bei zumindest einem Tier eines jeden Paares, wie die Befunde der Tiere der Gruppe 3 belegen. Daraus könnte man ableiten, dass die erhobenen Befunde bei den Tieren der Gruppe 1 zumindest nicht ausschließlich auf Stress zurückzuführen sind. Mendoza et al. zeigten bei weiblichen Totenkopffaffen (*Saimiri sciureus*) interessanter Weise deutlich reduzierte Kortisolspiegel nach der Gruppenformierung. Erst als ein männliches Tier (der „Stressor“) der Gruppe zugeführt wurde, begannen die Kortisolspiegel zu steigen (Mendoza et al. 2000).

Abschließend kann man für diese Arbeit sagen, dass die Formierung neuer gleichgeschlechtlicher Gruppen anfänglich sowohl bei männlichen als auch bei weiblichen Javaneraffen deutliche Auswirkungen auf Fertilitätsparameter zur Folge hat. Es hat sich aber auch gezeigt, dass alle diese Effekte nur temporär sind und bei männlichen Tieren ungefähr 13 Wochen, bei weiblichen Tieren ungefähr 3 Monate angehalten haben. Somit stünde einer gleichgeschlechtlichen Gruppenhaltung, auch im Rahmen von Fertilitätsprüfungen, nichts im Wege, solange man den Gruppen ausreichend Zeit zur Akklimatisierung einräumt. Es bleibt zu analysieren, was passiert, wenn man aus „stabilen“ Gruppen einzelne Tiere wieder herausnimmt oder durch weitere ergänzt. Die Frage ob es dann zu erneuten Effekten kommt, bleibt an dieser Stelle unbeantwortet. Stress, induziert durch die plötzliche, direkte Konfrontation mit einigen Artgenossen und den daraus resultierenden Rankämpfen, kann zumindest als eine mögliche Erklärung für die erhobenen Befunde, nicht komplett ausgeschlossen werden.

Noch immer wird kontrovers diskutiert, ob die Auseinandersetzung mit Artgenossen, eventuell auch negativen Einfluss auf die Tiere nehmen kann. Generell muss bei Gruppenneubildungen immer damit gerechnet werden, dass es zu „Revierkämpfen“ und damit verbunden zu kleineren Verletzungen kommen kann, was auch in dieser Arbeit beobachtet werden konnte. Als gesichert gilt heute die Annahme, dass Tiere niederen Ranges höhere Kortisolspiegel zeigen wenn sie a: größerem Stress ausgesetzt sind und b: weniger Möglichkeiten der sozialen Interaktion erfahren (Abbott et al. 2003).

## 6 ZUSAMMENFASSUNG

**Ziel der Arbeit:** Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Einfluss der Gruppenhaltung auf Routineparameter der Toxikologie (Klinische Pathologie, Körpergewicht) und auf wichtige Fertilitätsparameter (Hormonspiegel, Hodenvolumen, Spermaanalysen und Menstruationszyklen), bei geschlechtsreifen männlichen und weiblichen Javaner-Affen (*Macaca fascicularis*) untersucht.

**Methode:** Eine Gruppe von 7 fertilen männlichen Tieren wurde neu zusammengestellt, und die Effekte auf das Körpergewicht, die Klinische Pathologie, den Hormonstatus, die Hodengröße, die Spermienzahl und Spermienmotilität über 26 Wochen verfolgt. Ferner wurde diese Gruppe in zwei Untergruppen aufgeteilt und die oben genannten Parameter über weitere 26 Wochen gemessen, sodass die Beobachtungsphase insgesamt 52 Wochen betrug. In einem weiteren Experiment wurden Gruppen von 3-4 Tieren aus etablierten Verbänden untersucht.

Eine Gruppe von 8 weiblichen geschlechtsreifen Makaken wurde ebenfalls neu zusammengestellt und beobachtet, wobei hier der Menstruationszyklus sowie der Hormonstatus über einen Zeitraum von insgesamt 15 Monaten beobachtet und ausgewertet wurden.

**Ergebnisse:** Rangniedrige Tiere zeigten innerhalb der ersten Beobachtungswochen eine deutliche Abnahmen des Hodenvolumens gefolgt von eine Normalisierung zu Ende der Beobachtungsphase (26 Wochen). Interessanterweise konnten keine Veränderung der Hormonsekretion und der Ejakulatparameter festgestellt werden. Bei Tieren in etablierten Gruppen blieben die Veränderungen der Hodengröße überwiegend im normalen Schwankungsbereich.

Bei den weiblichen Tieren führte die Gruppenbildung zu verlängerten oder sistierenden Menstruationszyklen innerhalb der ersten 5 Monate. Diese Veränderungen korrelierten mit den einer Suppression der Östradiol- und Progesteronspiegel. In den folgenden 6 Monaten normalisierten sich die Ovarzyklen wieder.



**Schlussfolgerung:** Die gleichgeschlechtliche Gruppenhaltung geschlechtsreifer Javaner-Affen (*Macaca fascicularis*) ist sowohl in allgemeinen toxikologischen, als auch in speziellen Fertilitätsstudien möglich. Bei neu gebildeten Gruppen muss mit Effekten auf Hodengröße und Ovarzyklus inkl. Hormonspiegel über einen Zeitraum von ca. 6 Monaten gerechnet werden. Bei etablierten Gruppen tritt dieser Effekt kaum oder gar nicht auf. Die Dauer der Gruppenzugehörigkeit muss deshalb bei der Auswahl geschlechtsreifer Javaner-Affen für Untersuchungen mit sozialer Haltung unbedingt bedacht werden.

## 7 SUMMARY

**Study objective:** The objectives of this study were to evaluate standard toxicology parameters (clinical pathology and body weight) as well as fertility aspects (hormone level, testicular volume, semen analysis, and menstrual cycles) of group housed mature male and female non-human primates (*Macaca fascicularis*).

**Methods:** Seven mature, male primates were assigned to one group and monitored for body weight, clinical chemistry, hormone levels, testicular volume, sperm count and motility over a period of 26 weeks. Afterwards, the group was divided into 2 sub-groups and measurements were performed for additional 26 weeks, covering total study duration of 52 weeks. In a further experiment groups of 3 to 4 animals which had been in contact previously were evaluated.

Furthermore, eight mature female animals underwent assessment of the menstrual cycling and hormone (estradiol and progesterone) pattern, which were obtained for a period of 15 month.

**Results:** Subordinate animals indicated within the first weeks of observation a marked reduction in the testicular volume followed by normalization until the end of the observation period (26 weeks). Interestingly, this effect was not accompanied by corresponding effects in hormone secretion or ejaculate. For animals which had been in contact previously, the effects were much less pronounced and remained within the normal variation.

For the female animals the group formation caused prolonged or arrested menstrual cycles within the first 5 month. This effect correlated well with suppressed estradiol and progesterone values. For the following 6 month the menstrual cycles were back to normal duration.

**Conclusion:** The data of this study indicated that group housing mature male and female non-human primates (*Macaca fascicularis*) is feasible, even in male and female fertility studies. However, for group formation of animals which had not been in contact previously, effects on the testicular volume, menstrual cycle including hormone levels for a period of 6 month must be considered. For animals with previous contact, those effects were much less pronounced. Therefore, the duration of the pre-study group formation must be taken into account for the selection of mature non-human primates and examinations in a social environment.

## 8 LITERATUR

- Abbott DH, Reverne EB, Bercovitch FB, Shiely CA, Mendoza SP, Saltzmann W, Snowdown CT, Ziegler TE, Bajevic M, Garland T, Sapolsky RM. Are subordinates always stressed? A comparative analysis of rank differences in cortisol levels among primates. *Horm. Behav.* 2003; **43**: 67-82
- Alberts SC, Watts HE, Altmann J: Queuing and queue-jumping: Long-term patterns of reproductive skew in male savannah baboons, *Papio cynocephalus*. *Animal Behavior*. 2003 **65**: 821-840
- Alexander S, Fontenot MB: Isosexual social group formation for environment enrichment in adult male *Macaca mulatta*. American Association for Laboratory Animal Science Meeting Abstracts. 2003; p 141
- Altmann J, Alberts SC, Haines SA, Dubach J, Muruthi P, Coote T, Geffen E, Cheesman DJ, Mututua RS, Saiyalel SN, Wayne RK, Lacy RC, Bruford MW: Behavior predicts genes structure in a wild primate group. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1996; **93**: 5797-5801
- Aslam H, Schneiders A, Perret M, Weinbauer GF, Hodges JK: Quantitative assessment of testicular germ cell production and kinematic and morphometric parameters of ejaculated spermatozoa in the grey mouse lemur, *Microcebus murinus*. *Reproduction*. 2002; **123**: 232-332
- Augustsson H, Hau J: A simple ethological monitoring system to assess social stress in group housed laboratory rhesus macaques. *J. Med. Primatol.* 1999; **28**: 84-90
- Aureli F, Preston SD, de Waal F: Heart rate responses to social interactions in free-moving rhesus macaques (*Macaca mulatta*): a pilot study. *J. Comp. Psychol.* 1999; **113**: 59-65.
- Balcombe JP, Barnard ND, Sandusky C: Laboratory routines cause animal stress. *Contemp. Top. Lab. Anim. Science*. 2005; **43**: 42-51
- Bayne K, Dexter S, Suomi S: A preliminary survey of the incidence of abnormal behavior in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) relative to housing condition. *Lab. Animals*. 1992; **21**: 38-40
- Bellanca RU, Crockett CM: Factors predicting Increased incidence of abnormal behaviour in male pigtailed macaques. *Am. J. Primatol.* 2002; **58**: 57-69
- Boere V, Paludob GR, Pianta T., Canale G, Tomaz C: Effects of novelty, isolation stress, and environment enrichment on some haematological parameters in marmosets (*Callithrix penicillatalla*). In: *Laboratory animal husbandry: ethology, welfare, and experimental variables*. Michael W. Fox, 2009
- Bonadio C: "Macaca fascicularis" (On-line), Animal Diversity Web. Accessed July 30, 2004 at: <http://animaldiversity.ummz.umich.edu>
- Bourgeois S, Brent L: The effect of four enrichment conditions on abnormal behaviour in seven singly caged baboons (*Papio hamadryas anubis*) *Am. J. Primatol.* 2003; **60** (suppl): 80-81
- Chamove AS: Environment Enrichment for Monkeys Using Plants. *Laboratory Primate Newsletter*. 2005; **44**: 1-5
- Cameron JL: Stress and behaviourally induced reproductive dysfunction in primates. *Semin. Reprod. Endocrinol.* 1997; **15**: 37-45

- Capitanio JP, Randall CK, Fairbanks LA: Consideration in the selection and conditioning of old world monkeys for laboratory research: Animal from domestic sources. ILAR. 2006; **47**: 294-306
- Carlsson HE, Schapiro SJ, Farah I, Hau J: Use of primates in research: a global overview. Am. J. Primatol. 2004; **63**: 225-237
- Cavigelli SA, Pereira ME: Mating season aggression and fecal testosterone levels in male ring-tailed lemurs (*Lemur catta*). Horm. Behav. 2000; **37**: 246-55
- Crockett CM, Bowers M, Shimoji M, Leu M, Bowden DM, Sackett GP (1995): Behavioural response of longtailed macaques to different cage sizes and common laboratory experiences. Journal of Comparative Psychology. 1995a; **109**: 368-383
- Crockett CM, Shimoji M, Bowden DM: Behaviour, appetite, and urinary cortisol responses by adult female pigtailed macaques to cage size, cage level, room change, and ketamine sedation. Am. J. Primatol. 2000; **52**: 63-80
- Crouthamel B, Sackett G: Oral medication administration: Training monkeys to take juice from a syringe. Laboratory Primate Newsletter. 2004; **43**: 14-15
- Dang DC, Meusy-Dessolle N: Quantitative study of testis histology and plasma androgens at onset of spermatogenesis in the prepuberal laboratory-born macaque (*Macaca fascicularis*). Arch. Androl. 1984; **12** Suppl: 43-51
- Dua AA, Viaidja SR: Sperm motility and morphology as changing parameters linked to sperm count variations. J. Postgrad. Med. 1996; **42**: 93-96
- Dunbar R, Barrett L: Affen unsere haarigen Vettern. Egmont vgs Verlagsgesellschaft mbH, Köln, 2000
- Döcke F: Veterinärmedizinische Endokrinologie. 2 Auflage VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 1981
- Eaton G, Kelley ST, Axthelm MK, Iliff-Sizemore SA and Shiigi SM: Psychological well-being in paired adult female rhesus (*Macaca mulatta*). Am. J. Primatol. 1994; **33**: 89-99
- Engelhardt A, Heistermann M, Hodges JK, Nürnberg P, Niemitz C: Determinants of male reproductive success in wild long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) - male monopolisation, female mate choice or post-copulatory mechanisms. Behav. Ecol. and Sociobiology. 2006; **59**: 740-752
- Ferroz MM: Food and feeding behaviour of the pig-tailed macaque (*M. nemestrina leonine*) in semi-evergreen forest in Bangladesh. Primate Eye 1998; **65**: 22
- Foppiani L, Schlatt S, Simoni M, Weinbauer GF, Hacker-Klom U, Nieschlag E. Inhibin B is a more sensitive marker of spermatogenetic damage than FSH in the irradiated non-human primate model. J. Endocrinol. 1999; **162**: 393-400
- Fraser HM, Lunn SF: Nonhuman primates and female reproductive medicine. In: Reproduction in nonhuman primates, Eds. Weinbauer GF and Korte R, Waxmann Münster. 1999
- Fujita S, Sugiura H, Mitsunaga F, Shimizu K: Hormone profiles and reproductive characteristics in wild female Japanese macaques (*Macaca fuscata*). Am. J. Primatol. 2004; **64**: 367-375

- Garber PA, Moya L, Pruett JD, Ique D: Social and seasonal influences on reproductive biology in male moustached tamarins (*Saguinus mystax*). Am. J. Primatol. 2004; **38**: 29-46
- Gerber P, Schnell CR: Behavioural and cardiophysiological responses of common marmosets (*Callithrix jacchus*) to confrontations with opposite-sexed strangers. Primates. 2004; **45**: 187-196
- Geissmann T: Vergleichende Primatologie. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, 2003
- Gonzalez CA, Coe CL, Levine S: Cortisol responses under different housing conditions in female squirrel monkeys. Psychoneuroendocrinology. 1982; **7**: 209-216
- Gordon TP, Bernstein IS, Rose RM: Social and seasonal influences on testosterone secretion in the male rhesus monkey. Physiol. Behav. 1978; **21**: 623 - 627
- GT 123: Working party for the preparation of the fourth multilateral consultation of parties to the european convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (ETS No. 123); 2007
- Gust DA, Gordon TP, Wilson ME, Ahmed-Ansari A, Brodie AR, McClure HM: Formation of a new social group of unfamiliar female rhesus monkeys affects the immune and pituitary adrenocortical systems. Brain. Behav. Immun. 1991; **5**: 296-307
- Hagelin J: Survey on the use of nonhuman primates in Europe. Prim. Report 2004; **69**: 3-13
- Hall R, Everds NE: Factors affecting the interpretation of canine and nonhuman primate clinical pathology. Toxicologic Pathology 2003; **31**(Suppl.): 6-10
- Hambright MK, Deborah AG: A descriptive analysis of a spontaneous dominance overthrow in a breeding colony of Rhesus Macaques (*Macaca mulatta*). Laboratory Primate Newsletter 2003; **42**: 1-6
- Harvey H, Rice T, Kayhart R, Torres C: The effects of specific types of music on the activity levels of singly housed chimpanzees (*Pan troglodytes*). Am. J. Primatol. 2000; **51**: 60
- Hassimoto M, Harada T, Harada TA: Changes in hematology, biochemical values, and restraint ECG of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) following 6-month laboratory acclimation. Journal of Medical Primatology. 2004; **33**:175-186
- Hayashi KT, Moberg GP: Influence of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis on the menstrual cycle and the pituitary responsiveness to estradiol in the female rhesus monkey (*Macaca mulatta*). Biology of Reproduction. 1990; **42**: 260-265
- Hedge TA, Saunders KE, Ross CA: Innovative housing and environmental enrichment for bullfrogs (*Rana catesbeiana*). Contemporary topics in laboratory animal science 2002; **41**: 120-121
- Hendrickx AG, Binkert PE: Nonhuman primates and teratological research. J. Med. Primatol. 1990; **19**: 81-108
- Hepp-Reymond MC: Die Primaten in der biomedizinischen Forschung: Schwerpunkt Neurowissenschaften. In: Dignite humaine et Dignite de l' Animal (Eds. H Poltier et al.), 2000
- Herndon JG, Ruiz de Elvira MC, Turner JJ, Collins DC: Resumption of seasonal breeding patterns in male and female rhesus monkeys transferred from an Indoor to an outdoor environment. Biology of Reproduction. 1985; **32**: 733-744

- Howell S, Schwandt M, Fritz J, Roeder E, Nelson C: A stereo music system as environmental enrichment for captive chimpanzees. *Lab. Animal* 2003; **32**: 31-36
- Inoue M: Age gradations in vocalization and body weight in japanese monkeys (*Macaca fuscata*). *Folia Primatol.* 1988; **51**: 76-86
- Jerome CP, Peterson PE: Nonhuman primate models in skeletal research. *Bone*. 2001; **29**: 1-6
- Kappeler PM: Primate males: Causes and consequences of variation in group composition. *Animal Behaviour*. 2000; **60**: 413-414
- Kaplan JR, Manuck S, Shively C: The effects of fat and cholesterol on social behaviour in monkeys. *Psychosomatic Medicine*. 1991; **53**: 634-642
- Kerl J, Rothe H: Influence of cage size and cage equipment on physiology and behaviour of common marmosets. *Laboratory primate newsletter*. 1996; **35**: 10-13
- Kessler MJ, London WT, Rawlins RG, Gonzalez J, Martinez HS, Sanches J: Management of a harem breeding colony of rhesus monkeys to reduce trauma-related morbidity and mortality. *J. Med. Primatol.* 1985; **14**: 91-98
- King FA, Yarbrough CJ, Anderson DC, Gordon TP, Gould KG: *Primates*. Science. 1988; **240**: 1475-1482
- Kiyama A, Taylor AJ, Mc Carty JL, Wilson FAW: A video-display approach to environmental enrichment for macaques. *Laboratory primate newsletter*. 2003; **42**(3): 1-3
- Knowles L, Fourrier M: Behavioural Training of Group-housed Rhesus Macaques for Handling Purposes. *Laboratory Primate Newsletter*. 1995; **34**: 1-4
- Kordower JH, Gash DM: Animals and experimentation. An evaluation of animal models of alzheimer's and parkinson's disease. *Integr. Psychiatry*. 1986; **4**: 64-80
- Korte R, Vogel F, Osterburg I: The primate as a model for hazard assessment of teratogens in humans. *Mechanisms and models in toxicology. Archives of Toxicology*. 1987; Suppl. **11**: 115-121
- Korte R, Weinbauer GF: *Reproduction in nonhuman primates: a model system for human reproductive physiology and toxicology*. Waxmann, Münster, New York, München, Berlin, 1999
- Labes E: Einfluß unterschiedlicher Gruppenkonstellation auf Verhalten, Reproduktionsbiologie, Testosteron-und Kortikosteroid-Ausscheidung bei Mausmakimännchen (*Microcebus murinus*). Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover, 2003
- Lacreuse A, Martin-Malivel J, Lange HS, Herndon JG.: Effects of the menstrual cycle on looking preferences for faces in female rhesus monkeys. *Anim. Cogn.* 2006; **10**: 105-110
- Lamming GE: *Marshall's physiology of Reproduction*. 4<sup>th</sup> Edition, Volume 1, Reproductive Cycles of Vertebrates. Churchill Livingstone Edinburgh, London, New York, 1984.
- Loudon JE, Fuentes A, Welch AR: Agoism and Affiliation: Adult male sexual strategies across one mating period in three groups of Long-Tailed Macaques (*Macaca fascicularis*). *Laboratory Primate Newsletter*. 2005; **44**: 7-9
- Luetjens CM, Weinbauer GF, Wistuba J: Primate spermatogenesis: new insights into comparative testicular organisation, spermatogenetic efficiency and endocrine control. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 2005; **80**: 475-488



- Lutz C, Marinus L, Chase W, Meyer J, Novak M: Self-injurious behaviour in male rhesus macaques does not reflect externally directed aggression. *Physiol. Behav.* 2003a; **78**: 33-39.
- Lutz C, Well A, Novak M: Stereotypic and self-injurious behaviour in rhesus macaques: survey and retrospective analysis of environment and early experience. *Am. J. Primatol.* 2003b; **60**: 1-15
- Lynch R: Successful pair-housing of male cynomolgus monkeys. *Laboratory Primate Newsletter*. 1997; **37**: 7-9
- Machatschke IH, Wallner B, Dittami J: Impact of social environment on female chimpanzee reproductive cycles. *Hormones and behavior*. 2006; **50**: 126-131.
- Maestriperi D: Effects of early experience on female behavioural and reproductive development in rhesus macaques. *Proc. Biol. Sci.* 2005; **22**: 1243-1248.
- Mahone JP, Dukelow WR: Seasonal variation of reproductive parameters in the laboratory-housed male cynomolgus macaque (*Macaca fascicularis*). *J. Med. Primatol.* 1979; **8**:179-183
- Majolo B, Ventura R, Koyama NF: Sex, rank and age differences in the japanese macaque (*Macaca fuscata yakui*) participation in inter-group encounters. *Ethology*. 2005; **111**: 455
- Marshall GR, Wickings EJ, Luedecke DK and Nieschlag E: Stimulation of spermatogenesis in stalk-sectioned rhesus monkeys by testosterone alone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1983; **57**: 152-159.
- Martinez-Trujillo JC, Treue S: Feature-Based attention increases the selectivity of population responses in primate visual cortex. *Current Biology*. 2004; **14**: 744-751
- Mendoza SP, Capitanio JP, Mason WA: Chronic social stress: Studies in non-human primates. In: *The biology of animal stress*. CAB International: Moberg GP and Mench JA (Eds.), 2000
- McCormack K, Megna NL: The effects of privacy walls on aggression in a captive group of rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Am. J. Primatol.* 2001; **54** (Suppl 1): 50-51
- McClintock MK: Menstrual synchrony and suppression. *Nature*. 1971; **229**: 224-245
- Michael RP, Keverne EB: Pheromones in the communication of sexual status in primates. *Nature* 1968; **218**: 746-749
- Michael RP, Zump D: Aggression and gonadal hormones in captive rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Anim. Behav.* 1970; **18**: 95 - 98
- Michael RP, Bonsall RW: Peri-ovulatory synchronisation of behaviour in male and female rhesus monkeys. *Nature*. 1977; **3**: 463-465
- Moberg GP, Watson JG, Hayashi KT: Effects of adrenocorticotropin treatment on estrogen, luteinizing hormone, and progesterone secretion in the female rhesus monkey. *J. Med. Primatol.* 1982; **11**: 235- 241
- Mohr S, Niehoff M: Comparison of dual-Energy X-ray absorptometry (DXA) and peripheral quantitative computed tomography (pQCT) techniques for bone mineral density analysis. In: *Primate models in pharmaceutical drug development*. Waxmann, Münster, New York München, Berlin: Korte R, Vogel F, Weinbauer GF (Eds.), 1999



- Morgan D, Grant KA, Prioleau OA, Nader SH, Kaplan JR, Nader MA: Predictors of social status in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) after group formation. Am. J. Primatol. 2000; **52**: 115-131
- Nieschlag E, Simoni M, Gromoll J, Weinbauer GF: Role of FSH in the regulation of spermatogenesis: clinical aspects. Clin. Endocrinol. (Oxf). 2000; **51**: 139-146
- Norcross JL, Newman JD: Effects of separation and novelty on distress vocalizations and cortisol in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). Am. J. Primatol. 1999; **47**: 209-22
- Norman RL, McGlone J, Smith CJ: Restraint inhibits luteinizing hormone secretion in the follicular phase of the menstrual cycle in rhesus macaques. Biol. Reprod. 1994; **50**: 16-26
- Novak MA: Self-injurious behaviour in rhesus monkeys: new insights into its aetiology, physiology and treatment. Am. J. Primatol. 2003; **59**: 3- 19
- Plant TM, Marshall GR. The functional significance of FSH in spermatogenesis and the control of its secretion in male primates. Endocr. Rev. 2001; **22**: 764-86
- Radespiel U, Dal Secco Cord V, Drogemüller C, Braune P, Labes E, Zimmermann E: Sexual selection, multiple mating and paternity in grey mouse lemurs (*Microcebus murinus*). Animal Behavior. 2002; **63**: 259-268
- Reinhardt V: Arguments for Single-Caging of Rhesus Macaques: Are they justified? Animal welfare information centre newsletter. 1995; **6**: 1-6
- Reinhardt V: Species-adequate housing and handling conditions for old world nonhuman primates kept in research institutions. In: Comfortable quarters for laboratory animals (Ed V. Reinhardt), 1997
- Reinhardt V, Garza-Schmidt M: Daily feeding enrichment for laboratory macaques: Inexpensive options. Laboratory Primate Newsletter. 2000; **39**: 8-10
- Reinhardt V: Common husbandry-related variables in biomedical research with animals. Laboratory Animals 2004; **38**: 213-235
- Rilling JK, Winslow JT, Kilts CD: The neural correlates of mate competition in dominant male rhesus macaques. Biol. Psychiatry. 2004; **56**: 364–375
- Sachs L: Angewandte Statistik. 6th ed. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 1984
- Shaikh AA, Naqvi RH, Shaikh SA: Concentration of estradiol-17beta and progesterone in the peripheral plasma of the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) in relation to the length of the menstrual cycle and its component phases. J. Endocrinol. 1978; **79**: 1-7
- Saitou, N: Evolution of hominoids and the search for a genetic basis for creating humanness. Cytogenet. Genome Res. 2005; **108**: 16-21
- Samimi DB: Carotenoids: Nature's cure to macular degeneration? Nutrition Bytes. 2005; **10**: 1-5
- Sapolsky RM: The influence of social hierarchy on primate health. Science. 2005; **29**: 648-652
- Sauer G, Spielmann H, Rusche B: Forth EU report on the statistics on the number of animals used for scientific purposes in 2002 – Trends, problems, conclusions. Altex. 2005; **22**: 59-67

- Soltis J, Wegner FH, Newman JD: Adult cortisol response to immature offspring play in captive squirrel monkeys. *Physiol. Behav.* 2003; **80**: 217-223
- Smith JA, Boyd KM: The use of non-human Primates in Research and Testing. 61pp, Leicester UK, The British Physiological Society, 2002
- Smuts BB, Smuts RW: Male Aggression and sexual coercion of females in nonhuman primates and other mammals: Evidence and theoretical implications. *Advances in the study of Behaviour.* 1993; **22**: 1-63
- Suzuki J, Miw N, Kumazaki K, Abe M, Kamanaka Y, Martsubayashi N, Gotoh S, Matsubayashi K: The influence of rearing conditions on the physical growth of captive Japanese Macaques (*Macaca fuscata*). *J. Vet. Med. Science* 2001; **63**: 361-366
- Stahl D, Herrmann D, Kaufmanns W: Group formation of a captive all-male group of lion-tailed macaques (*Macaca Silenus*). *Primate report.* 2000; **58**: 93-108
- Stahlmann R, Thiel R: Reproduktionstoxische Wirkung von Arbeitsstoffen. *BIA-Report* 1999; **4**: 38-64
- Stoinski TS, Czekala N, Lukas KE, Maple TL: Urinary androgen and corticoid levels in captive, male western lowland gorillas (*Gorilla g. gorilla*): age- and social group-related differences. *Am. J. Primatol.* 2002; **56**: 73-87
- Schapiro SJ, Kessel AL.: Weight gain among juvenile rhesus macaques: a comparison of enriched and control groups. *Lab. Anim. Sci.* 1993; **43**: 315-318
- Wuttke W. Regulation der Gonadenfunktion bei der Frau. In: Schmidt RF, Thews G: *Physiologie des Menschen.* Springer Verlag Berlin 2000, S. 496
- Scholtysik G, Denac H, Mevissen M: *Veterinärmedizinische Pharmakologie.* Veterinärpharmakologisches Institut der Universität Bern, 2000
- Schrod A: Vergleichende Analysen der Spermienmotilität, -morphologie und -morphometrie bei Primaten mit unterschiedlichen Paarungssystemen. *Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover,* 2002
- Schub T, Eisenstein M: Enrichment devises for nonhuman primates. *Laboratory Animal.* 2003; **32**: 37-40
- Thomas JA: Toxic responses of the reproductive system: In: Klaassen, CD (Eds.: Cassarett & Doull's Toxicology, The basic science of poisons. 5 Aufl. Mc Graw-Hill, New York, 1996
- Thomas C, Gebert G, Bittinger A, Joseph K: *Grundlagen der klinischen Medizin, Bd.5, Endokrines System.* Schattauer Verlag 1992
- Tiefenbacher S, Novak MA, Marinus LM, Chase WK, Miller JA, Meyer JS (2004): Altered hypothalamic-pituitary-adrenocortical function in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) with self injurious behaviour. *Psychoneuroendocrinology.* 2004; **29**: 501-515
- van Noordwijk MA, van Schaik CP: Career moves: Transfer and rank challenge decisions by male long-tailed macaques. *Behaviour.* 2001; **138**: 359-395
- Vertein R, Reinhardt V: Training Female Rhesus Monkey to Cooperate During In-Homecage Venipuncture. *Laboratory Primate Newsletter.* 1989; **28**: 1-3
- Videan EN, Fritz J, Murphy J, Borman R, Smith HF, Howell S: Training captive chimpanzees to cooperate for an anaesthetic injection. *Lab. Animal.* 2005; **34**: 43-48

- Vogel F, Bee W: Reproduction toxicology in primates: An overview of methods and techniques. In: Reproduction in nonhuman primates, Eds. Weinbauer GF and Korte R, Waxmann Münster. 1999; 27-59
- Wallis J, King BJ: The effect of female proximity and social interaction on the menstrual cycle of crab-eating monkeys (*Macaca fascicularis*). Primates 1986; **27**: 83-94
- Watanabe H, Fujiyama A, Hattori M, Taylor TD, Toyoda A, Kuroki Y, Noguchi H, BenKahla A, Lehrach H, Sudbrak R, Kube M, Taenzer S, Galgoczy P, Platzer M, Scharfe M, Nordsiek G, Blocker HB, Hellmann I, Khaitovich P, Paabo S, Reinhardt R, Zheng HJ, Zhang XL, Zhu GF, Wang BF, Fu G, Ren SX, Zhao GP, Chen Z, Lee YS, Cheong JE, Choi SH, Wu KM, Liu TT, Hsiao KJ, Tsai SF, Kim CG, Oota S, Kitano T, Kohara Y, Saitou N, Park HS, Wang SY, Yaspo ML & Sakaki Y.: DNA sequence and comparative analysis of chimpanzee chromosome 22. Nature. 2004; **429**: 382-388
- Wingfield JC, Hegner RE, Dufty AM Jr., Ball GF: The “challenge hypothesis”: theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies, Am. Nat. 1990; **136**: 829-846
- Williams JK, Suparto I: Hormone Replacement Therapy and Cardiovascular Disease: Lessons from a monkey model of postmenopausal women. ILAR Journal. 2004; **45**: 139-146
- Wilson HC, Kiefhaber SH, Gravel V. Two studies of menstrual synchrony: negative results. Psychoneuroendocrinology. 1991; **16**:353-9
- Wistuba J, Schrod A, Greve B, Hodges JK, Aslam H, Weinbauer GF, Luetjens CM: Organization of seminiferous epithelium in primates: relationship to spermatogenic efficiency, phylogeny, and mating system. Biol. Reprod. 2003; **69**: 582-591
- Wolfensohn S: Social housing of large primates: Methodology for refinement of husbandry and management. ATLA. 2004; **32**: 149-151
- Wolfe T: Environmental enrichment. ILAR Journal. 2005; **46**: 79-82
- Young S: Getting Cynomolgus (and others) to take their medicine. Laboratory Primate Newsletter. 1997; **36**: 4-5
- Xiao E, Xia-Zhang L, Ferin M: Stress and the menstrual cycle: short- and long-term response to a five-day endotoxin challenge during the luteal phase in the rhesus monkey. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1999; **84**: 623-626
- Ziegler TE, Scheffler G, Snowdon CT: The relationship of cortisol levels to social environment and reproductive functioning in female cotton-top Tamarins (*Saguinus Oedipus*). Horm. Behav. 1995; **29**: 407-424

## **Erklärung**

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Marc Niehoff

## **DANKSAGUNG**

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Martin Bergmann, sowie bei Herrn Prof. Dr. Gerhard F. Weinbauer, möchte ich ganz herzlich für das mir entgegengebrachte Vertrauen beim Überlassen des Themas, all die erfahrene Unterstützung und auch für die guten Ratschläge danken.

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Dr. Friedhelm Vogel, der mir die Möglichkeit zum Erstellen dieser Arbeit eröffnet hat und den erforderlichen Laborarbeitsplatz, Arbeitsmaterialien und - vor allen Dingen - die Arbeit mit den Tieren ermöglichte.

Bei den zahlreichen Tierpflegern, die mich bei der Aufzeichnung der Menstruationszyklen, bei Blutentnahmen und der Beobachtung und Pflege der Tiere tatkräftig unterstützt haben. Auch bei Darko, Rabea und Britta, für ihre Mitarbeit im Tierstall und die wertvolle Datenaufzeichnung. Außerdem bei Mechthild und Team für die große Hilfe bei der Auswertung der Hormondaten, innerhalb zahlreicher RIA Nächte und Barbara für die Hilfe bei der Statistischen Analyse.

*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

VVB LAUFERSWEILER VERLAG  
STAUFBENGRING 15  
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5699888 Fax: -5699890  
redaktion@doktorverlag.de  
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-5521-9



© spacebetween - Fotolia.com